

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Цветикова Софья Андреевна

АНТАРКТИЧЕСКИЕ ЦИАНОБАКТЕРИИ РОДА *PSEUDANABAENA*

Выпускная квалификационная работа бакалавра по направлению подготовки Биология
основная образовательная программа бакалавриата 020400 Биология

Работа выполнена на кафедре микробиологии Санкт-Петербургского Государственного
университета (СПбГУ)

Научный руководитель: доцент, к.б.н., Аверина Светлана Геннадиевна

Санкт-Петербург

2018

Содержание

1. Введение	4
2. Обзор литературы	5
2.1. Особенности антарктических местообитаний цианобактерий	5
2.1.1. Общая характеристика антарктических местообитаний	5
2.1.2. Антарктические оазисы как местообитание цианобактерий	8
2.2. Рост цианобактерий при низких температурах	10
2.2.1. Определение понятия психрофилии	10
2.2.2. Механизмы адаптации цианобактерий к низким температурам	12
2.2.3. Общая характеристика цианобактерий р. <i>Pseudanabaena</i>	16
3. Материалы и методы исследования	19
3.1. Объект исследования	19
3.2. Культивирование цианобактерий и оценка динамики роста при различных температурах	21
3.3. Оценка морфологии и размеров клеток <i>Pseudanabaena</i> sp. при разных температурах культивирования	22
3.4. Исследование образцов ДНК	22
3.4.1. Выделение тотальной ДНК из биомассы	23
3.4.2. Амплификация последовательности гена 16S рРНК	24
3.4.3. Электрофорез в агарозном геле	24
3.4.4. Экстракция исследуемого фрагмента из агарозного геля	25
3.5. Секвенирование и анализ 16S рДНК	26
4. Результаты и их обсуждение	27
4.1. Оценка динамики роста культуры в зависимости от температуры	27
4.2. Измерение накопленной биомассы по сухому весу	31
4.3. Морфометрия и анализ морфологии штаммов при различных температурах роста	32

4.4. Молекулярно-филогенетический анализ.....	39
5. Выводы	43
Список литературы.....	44
Приложение 1.....	54
Приложение 2.....	58
Приложение 3.....	63
Приложение 4.....	65

1. Введение

Цианобактерии в сообществах холодных экосистем играют важную роль, так как являются основными продуцентами, способны к фиксации азота, образуют микробные маты, создают среду для симбиотических микроорганизмов (Straka, Stokes, 1960, Pandey et al., 2004, Zakhia et al., 2008). Фототрофные микроорганизмы Антарктики не подвергаются интенсивному выеданию гетеротрофами, конкуренция с другими продуцентами низкая. Водоросли и цианобактерии полярных регионов являются ценной и информативной моделью для изучения холодовых адаптаций (Elster, 2004).

На кафедре микробиологии Санкт-Петербургского государственного университета (СПбГУ) уже несколько лет ведутся исследования цианобактерий холодных мест обитания. В частности, сформирована рабочая коллекция штаммов, выделенных из водоемов Антарктиды. Несколько штаммов этой коллекции стали объектами исследования нашей работы.

Цель данной работы – характеристика антарктических цианобактерий р. *Pseudanabaena* в отношении особенностей их роста при низких температурах, а также анализ их филогенетического родства с другими представителями рода. В связи с поставленной целью были сформулированы следующие задачи:

1. Провести культивирование при разных температурах антарктических штаммов (CALU 1773, 1785, 1787, 1791) и штаммов, выделенных из проб из Финского залива (CALU 1811, 1812).
2. Определить оптимальную температуру роста для каждого штамма по данным измерения оптической плотности и биомассы по сухому весу.
3. Охарактеризовать влияние неоптимальных температур на антарктические штаммы по результатам морфометрии и оценки морфологии клеток.
4. Провести филогенетический анализ исследуемых штаммов с использованием последовательностей фрагментов гена 16S рРНК.

2. Обзор литературы

2.1. Особенности антарктических местообитаний цианобактерий

2.1.1. Общая характеристика антарктических местообитаний

Антарктида является наиболее удаленным от населенного мира материком, одновременно являясь недоступным для изучения или заселения. На территории Антарктики встречаются четыре основных типа ландшафта: антарктический ледяной щит, занимающий большую часть площади материка, шельфовые льды, зоны открытой почвы и краевой лед.

Характерной чертой Антарктиды считаются жесткие климатические условия – на территории станции Восток зарегистрирована самая низкая температура на Земле. Почвы Антарктиды обладают разными характеристиками: в прибрежных областях они. Во внутренней части материка температура может достигать -80°C , в прибрежной зоне -70°C . Лишь в отдельных регионах в период антарктического лета температура может подниматься выше $+10^{\circ}\text{C}$. Кроме температуры неблагоприятными факторами являются сильные ветра (de Blij, 1978).

Когда капитан Р.Ф. Скотт, не имевший представления о микроорганизмах, увидел сухие долины Мак-Мердо, он назвал эти земли «долиной смерти» (Scott, 1905, Priscu, 1999). Впервые цианобактерий в полярном регионе обнаружил шведо-финский ученый Н.А.Э. Норденшёльд (Nils Adolf Erik Nordenskiöld) в арктической экспедиции 1870 года (Leslie, 1879). Найденный им осадок, названный «крионит» из-за темного цвета, сначала считали каменной пылью, но позже было доказано присутствие в нем именно темноокрашенных цианобактерий (Vincent, 2007).

Было проведено множество исследований, показавших наличие и разнообразие эу- и прокариотических микроорганизмов в биотопах Антарктиды: ассоциации с одноклеточными водорослями тающего льда (McLean, 1918), снега, воды, ледников, растительного покрова, почвы, фекалий животных (Darling, Siple, 1941, Straka, Stokes, 1960), желудочно-кишечного тракта птиц (Sieburth, 1959), льда озера Восток (Priscu, 1999) (Singh, Elster, 2007).

В настоящее время очевидна способность микроорганизмов к жизни при низких температурах. Температурный лимит жизни оценивается в -20°C – при такой температуре

бактерии живут в отдельных каплях воды внутри льда (D'Amico et al., 2006).

Антарктида является единственным континентом, на котором в качестве продуцентов преобладают микроорганизмы (цианобактерии и водоросли) и низшие растения (лишайники и мхи). Известно только два вида сосудистых растений, встречающихся в прибрежных областях Антарктического полуострова (Convey, Smith, 2006). Цианобактерии встречаются во всех биотопах Антарктики: снег, лед, моря, пресноводные и соленые озера, источники, почва (Vincent, 1988). Даже в условиях ледяной пустыни, при почти полном отсутствии жидкой воды, некоторые группы этих организмов способны к выживанию и накоплению биомассы (Quesada, Vincent, 2012). Для цианобактерий характерна стратегия «медленного роста», поэтому в эфемерных экосистемах они растут менее эффективно, чем в постоянных. Например, тающий снег может дать среду для роста микроорганизмов только на несколько недель, кроме того, талая вода утекает и не может поддерживать постоянный объем. Такое местообитание может быть колонизировано эукариотическими водорослями с большим успехом, чем цианобактериями (Vincent, 1988).

Почвы Антарктиды обладают разными характеристиками: в прибрежных областях они относительно богаты питательными веществами, в континентальных пустынях – олиготрофны. Жесткие климатические условия создают условия для функционирования экосистем с малым разнообразием организмов и короткими пищевыми цепями. Следствием этого является гетерогенное распределение микроорганизмов в почвах. Наиболее часто в почвах Антарктиды встречаются представители фил *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Acidobacteria*, *Gemmatimonadetes*, *Deinococcus-Thermus*, *Cyanobacteria* (Bottos et al., 2014). Среди цианобактерий удалось изолировать штаммы родов *Phormidium* и *Pseudanabaena* (Davey et al., 1991). При помощи филогенетического анализа последовательностей 16S рРНК микроорганизмов образцов почвы были идентифицированы представители порядков *Nostocales*, *Chroococcales* и *Oscillatoriales* (Wood et al., 2008).

В верхних широтах Антарктики цианобактерии встречаются в почве вечной мерзлоты. Сезонное оттаивание может служить источником воды для таких экосистем. Кроме того, показано, что цианобактерии способны активно перемещаться вглубь почвы и на ее

поверхность в зависимости от количества жидкости. В ходе исследования биоценозов почв вечной мерзлоты цианобактерии были обнаружены во всех образцах (Gilichinsky et al., 2007). В зависимости от глубины в почвах Антарктиды преобладают разные группы бактерий: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* и фототрофы *Cyanobacteria* и *Chloroflexi* в верхнем слое, *Actinobacteria* и *Firmicutes* на глубине 0,5–2 м, *Betaproteobacteria* на глубине 3–4,2 м (Blanco et al., 2012).

Цианобактерии также могут образовывать уникальные «скрытые ниши» (cryptic niches), образуя скопления в небольших полостях на поверхностях камней (гиполиты), слои под поверхностью камней (эндолиты) и корки на поверхности почвы (biological soil crusts, BSC). Такое расположение обеспечивает физическую стабильность экосистемы, что способствует развитию медленнорастущих цианобактерий. Кроме того, экосистема оказывается более защищенной от абиотических стрессов (излучения, ветров). Помимо цианобактерий, такие сообщества включают большое разнообразие бактериальных и грибных филотипов (Makhalanyane et al., 2015).

Еще одно уникальное местообитание полярных микроорганизмов – криокониты. Это небольшие цилиндрические полости на поверхности льда, заполненные водой. Формирование криоконитов связано с занесением ветром твердых частиц, которые поглощают солнечное излучение и способствуют локальному таянию льда (Makhalanyane et al., 2015). Как правило, цианобактерии доминируют в таких экосистемах и чаще всего представлены родами *Phormidium*, *Nostoc*, *Leptolyngbya* (Stibal et al., 2006, Cameron et al., 2012).

На материке есть много озер. Ранние исследования позволяли предположить, что водные системы Антарктиды содержат малое разнообразие цианобактерий. Например, при исследовании озера Фрикселл (Земля Виктории, сухие долины Мак-Мердо) было описано лишь два рода цианобактерий – *Phormidium* и *Lyngbya* (Wharton et al., 1983). Однако через 20 лет, с использованием анализа последовательностей 16S рРНК и внутренних транскрибируемых спейсеров (internal transcribed spacer, ITS), удалось идентифицировать представителей 10 филотипов в микробных матах этого озера: *Geitlerinema*, *Nostoc*, *Hydrocoryne*, *Leptolyngbya*, *Lyngbya*, *Pseudanabaena*, *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Schizothrix*, *Nodularia* (Taton et al., 2003).

При таянии льда и снега возникают ручьи, важной чертой которых является наличие придонных цианобактериальных матов. Например, маты, исследованные в потоках на поверхности оледеневшего пролива Мак-Мердо, состояли преимущественно из цианобактерий рода *Nostoc*, в меньшем количестве присутствовали *Phormidium* sp., *Oscillatoria* sp., *Microcoleus vaginatus*. Кроме того, в этом биотопе были обнаружены пленки *Gloeocapsa kuetzingiana* (Howard-Williams et al., 2007).

Кроме ледников во внутренней части материка есть шельфовые льды на его границе. При летнем повышении температуры на их поверхности может образовываться сеть из озер и связывающих их потоков. Озера поверхности шельфовых льдов могут сильно различаться между собой по размеру, глубине, физико-химическим свойствам. Например, из-за близости морской воды в озерах может значительно различаться соленость. Следствием различия водоемов являются различия в разнообразии представленных в них организмов. В бактериальных матах трех озер на поверхности шельфового ледника Мак-Мердо были найдены разные представители родов *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Lyngbya*, *Nostoc*, *Nodularia* (Jungblut et al., 2005).

2.1.2. Антарктические оазисы как местообитание цианобактерий

Несмотря на характерные для Антарктиды жесткие условия среды, встречаются и свободные от льда области. Лишь небольшая часть территории Антарктиды не покрыта льдом: некоторые прибрежные регионы и отдельные горные вершины. Основная часть свободных от льда прибрежных областей расположена на Антарктическом полуострове и Земле Виктории (de Blij, 1978).

Антарктические территории, свободные от льда, принято называть оазисами. Впервые слово в этом смысле употребил метеоролог А. Стефенсон, участвовавший в британской экспедиции в Землю Грэйама и давший описание оазиса на острове Александра I (Stephenson, 1938). Более точное определение оазисам дал Солопов (1967): антарктический оазис – свободная от льда территория, отделенная от окружающих льдов зоной таяния (ablation zone). В это понятие не включаются нунатаки (выступающие из-под ледяного покрова скалистые пики и холмы), прибрежные наносы, выступающие и

находящиеся в море территории (небольшие полуострова и острова) (Gore, Pickard, 2007). Озера таких территорий летом, в течение 9–11 недель, не замерзают, что создает относительно благоприятную среду для развития сообществ микроорганизмов (Burgess et al., 1994, Ellis-Evans et al., 1998). Наиболее крупными антарктическими оазисами являются сухие долины Мак-Мердо (4900 км²), оазис Бангера (950 км²) и оазис Вестфолда (420 км²). Холмы Ларсеманна (69°25' ю.ш., 76°10' в.д.) – оазис гораздо меньшего размера (50 км²), на территории которого располагаются пять исследовательских станций, в том числе российские Прогресс и Прогресс-2. Эта территория была обнаружена и описана в 1936 году в экспедиции Ланс Кристенсена. Холмы Ларсеманна включают в себя два полуострова Stornes и Broknes, формирующих морскую границу. С юга оазис ограничен льдами, а с восточной стороны ледником Dälk (Gore, Pickard, 2007). Расположение холмов Ларсеманна на карте Антарктиды представлено на рис. 1.

На этой территории находится более 150 пресных озер и прудов, отличающихся богатыми экосистемами по сравнению с другими оазисами (Gore, Pickard, 2007). Самое крупное озеро данного оазиса, озеро Прогресс, имеет площадь примерно 10 га и глубину 38 м. Большинство озер питает вода от тающего снега, но некоторые из них имеют втекающие и вытекающие источники (Vincent et al., 2008).

Однако и эти водоемы считаются олиготрофными и ультраолиготрофными, продуктивность нарастания биомассы в них крайне низкая. Глубина озер составляет 3–10 м, что при высокой прозрачности воды создает неблагоприятные условия для существования планктона. Известно, что низкая температура оказывает влияние на чувствительность фотосинтетических организмов к ультрафиолетовому излучению (Roos, Vincent, 1998). Бентосные сообщества включают цианобактерий, которые обладают комплексом механизмов защиты от воздействия ультрафиолетового излучения (Ellis-Evans, 1996, Vincent, 2007). Например, в клетках может снижаться количество фикобилинов и хлорофилла *a*, изменяться концентрация каротиноидов, происходить выцветание хлорофилла (chlorophyll-bleaching), появление активных форм кислорода (АФК), активная репарация ДНК (эксцизионная репарация и фотореактивация), продукция пигментов глоскопсина, сцитонемина и микоспорина (screening and quenching pigments). Также для цианобактерий показано активное избегание избыточного излучения (Quesada, Vincent,

1997, Zakhia et al., 2008). Кроме того, цианобактерии обладают приспособленностью к низкой температуре, циклам замораживания-оттаивания, высушиванию, изменяющимся условиям освещения, колебаниям солености и содержания питательных веществ (Van Trappen et al., 2002).



Рис. 1. Холмы Ларсеманна на карте Антарктиды отмечены красным (в углу). Станция Прогресс-2 отмечена зеленым. Длина шкалы – 2 км (по Burgess et al., 1994).

2.2. Рост цианобактерий при низких температурах

2.2.1. Определение понятия психрофилии

Первое упоминание о психрофильных микроорганизмах относится к 1840 г, когда во время первой военно-морской поисковой экспедиции в Антарктиду ботаник Хукер (Hooker) наблюдал водоросли, ассоциированные с морским льдом и окрашивающие его. В 1887 г. Цертес (Certes) сообщал о существовании бактерий, растущих в осадках при низких температурах (Russel, 2009).

Одним из первых термин «психрофильный» относительно микроорганизмов

употребил Шмидт-Нильсон (Schmidt-Nielson, 1902), подразумевая под ним в том числе всех бактерий, которые способны не только выживать при 0°C, но и увеличивать численность клеток. Этот термин тут же подвергся обсуждению: Мюллер не соглашался с ним на основании того, что некоторые бактерии, способные к росту и размножению при 0°C, имеют температурный оптимум в диапазоне 20–30°C (Müller, 1903). Несмотря на идеи Мюллера, термин «психрофильный» продолжали использовать для холодоустойчивых бактерий. В 1958 году Фрезер (Frazier) сформулировал семантический парадокс: большинство бактерий, именуемых психрофилами, являются мезофилами на основании их оптимальной температуры роста (Eddy, 1960).

Таким образом, с момента возникновения термина существовала значительная неопределенность в его понимании. Авторы использовали его для характеристики бактерий, имеющих различные крайние и оптимальные температуры (Таблица 1). Точное определение температурных границ психрофилии для бактерий было введено лишь в 1975 году (Morita, 1975). Однако температурные рамки психрофилии остаются спорными до сих пор (Cavicchioli, 2016).

Таблица 1.

Определение температурных интервалов для психрофильных микроорганизмов разными авторами (по Eddy, 1960, с дополнениями)

Автор	Температура, °C		
	Минимальная	Оптимальная	Максимальная
Eyre, 1902	0	15	30
Buchanan & Fulmer, 1930	–	18–20	–
Clifton, 1951	0	10–20	30
Ingram, 1951	<0	15–25	-
Oginsky & Umbreit, 1955	0	12–18	25
Jacobs, Gerstein & Walter, 1957	0	<15	30
Ingraham & Stokes, 1959	–10	20–40	<45
Morita, 1975	0	<15	20
Cavicchioli et al., 2009	–	–	20

Для организмов, хорошо развивающихся при низких температурах, но имеющих максимальную температуру роста выше 20°C, используют другие термины. Их называют «психротрофами» или «психротолерантными» (Cavicchioli et al., 2009, Russel, 2009). При этом термин «психротроф» чаще используют в пищевой индустрии в отношении микроорганизмов, способных вызывать порчу замороженных продуктов. Термин «психротолерантный» используется в экологической литературе и является более правильным при изучении температурного интервала роста таких микроорганизмов (Russel, 2009).

2.2.2. Механизмы адаптации цианобактерий к низким температурам

Благодаря замечательной способности к толерантности к абиотическим стрессам, цианобактерии встречаются повсеместно. В холодных экосистемах эти бактерии являются главными фототрофами (Straka, Stokes, 1960, Tang et al., 1997, Zakhia et al., 2008). Однако роль цианобактерий в биоценозе оказывается малоизученной и даже недооценивается по двум причинам. Во-первых, их сложно изучать по причине крайне небольшой скорости роста культур в лаборатории. Во-вторых, исследователи сравнивают их с одноклеточными водорослями тех же биотопов, способных к более быстрому росту в лабораторных условиях (Seaburg et al., 2008).

Из различных местообитаний были выделены штаммы цианобактерий, устойчивых к холоду. Среди них есть представители родов *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Nostoc*, *Synechocystis* (D'Amico et al., 1960, Wada et al., 1990, Vinocur, Pizarro, 1995, Tang et al., 1997, Nadeau, Castenholz, 2000, Pandey et al., 2004).

Считается, что большинство цианобактерий являются не психрофильными, а психротолерантными, то есть оптимальная температура их роста превышает 15°C (Zakhia et al., 2008). В работе Tang et al. (1997) исследовалось влияние температуры на скорость роста и пигментный состав матформирующих цианобактерий порядка *Oscillatoriales* водоемов арктического, субарктического и антарктического регионов. Среди исследуемых 27 изолятов температурный оптимум варьировал от 15 до 35°C (среднее значение 19,9°C), что подтверждает психротолерантность большинства цианобактерий. Лишь 18 из 27

изолятов показали видимый рост при температуре 5°C. Несмотря на то, что температурный оптимум двух штаммов был ниже 15°C, эти штаммы нельзя назвать психрофильными, так как температурный максимум их роста выше 20°C.

Однако есть данные и о цианобактериях, оптимальная температура роста которых ниже 10°C, то есть свойство психрофилии действительно встречается у цианобактерий. Nadeau и Castenholz (2000) изучали зависимость роста цианобактерий из водоемов шельфового ледника Мак-Мердо от температуры. Два полученных изолята (*Oscillatoria* sp.) имели оптимум роста при 8°C и не росли при температуре 24°C, что позволяет считать их истинно психрофильными.

В работе Tang и Vincent (1999) сравниваются два штамма *Phormidium* sp., один из которых является психрофильным (оптимальная температура 15°C, рост при температурах 5–20°C), а второй – мезофильным (оптимальная температура 30°C, рост при 10–40°C). Показано, что эти штаммы обладают разными механизмами адаптации к изменениям температуры: мезофильный штамм способен изменять пигментный состав и активность фиксации углерода, а у психрофильного штамма изменяется только активность фиксации углерода.

Недавно был обнаружен еще один психрофильный представитель рода *Oscillatoria*. Он был выделен в чистую культуру из источника на полуострове Бартон (о. Кинг-Джордж, Шетландские острова, Антарктида). Данный штамм способен к росту при температурах 5–20°C и не растет при температуре 25°C и выше (Won Hong et al., 2013). Несмотря на данные о росте указанных групп в условиях низких температур, обоснованность использования термина «психрофильный» для цианобактерий остается спорной (Fritsen, Priscu, 1998, Tang, Vincent, 1999, Vincent, 2007, Seaburg et al., 2008).

Способность к жизни при низких температурах требует от цианобактерий различных адаптаций. Низкие температуры снижают активность ферментов, уменьшают текучесть мембраны, приводят к сокращению транспорта веществ. Кроме того, снижение температуры может приводить к неправильному фолдингу и холодовой денатурации белков, формированию льда внутри клетки. При низких температурах увеличивается растворимость газов, вследствие этого может увеличиваться концентрация активных форм кислорода (АФК) в клетке (D'Amico et al., 2006).

При исследовании психрофильных и психротолерантных цианобактерий были выявлены следующие молекулярные механизмы защиты:

1. Поддержание текучести мембраны осуществляется за счет изменения содержания полиненасыщенных жирных кислот с сокращенной длиной углеродной цепочки, с углеродной цепочкой с разветвлениями или циклическими элементами (D'Amico et al., 2006, Morgan-Kiss et al., 2006, Zakhia et al., 2008). Например, такие жирные кислоты, как C16:0 и C18:0, переводятся в C16:1 и C18:1 ацил-липидными десатуразами во время постсинтетических модификаций (Chintalapati et al., 2004). Показано, что именно изменение текучести мембраны под действием низкой температуры приводит к изменению экспрессии генов, кодирующих белки ответа на температурный стресс (Los, Murata, 1999). Согласно современной модели, полученной при изучении *Synechocystis sp.* PCC 6803, передача сигнала осуществляется двухкомпонентной системой (рис. 2). Сенсор (гистидиновая киназа, Hik33) располагается в мембране, а регулятор ответа (Rer1) – в цитоплазме. Снижение температуры приводит к уменьшению жидкостности мембраны, что активирует Hik33. Вероятно, далее переносом фосфатной группы с помощью Hik19 активируется белок Rer1, запускающий транскрипцию гена *desB*, что приводит к синтезу десатуразы. Увеличение количества этого фермента в мембране приводит к увеличению количества ненасыщенных жирных кислот, что позволяет увеличить текучесть мембраны. Кроме того, Rer1 запускает синтез и других белков, участвующих в холодовом ответе (Suzuki et al., 2000).
2. Осмоадаптация большинства микроорганизмов осуществляется за счет накопления ионов K^+ , либо за счет продукции небольших органических молекул-осмопротекторов. Продукция осмопротекторов (compatible solutes) также позволяет снизить температуру точки замерзания внутренней среды клетки (Welsh, 2006, Zakhia et al., 2008). Цианобактерии продуцируют такие осмопротекторы, как сахароза, трегалоза, гликозилглицерол, глицин бетаин (Mackay et al., 1984, Reed et al., 1984, Warr et al., 1984).

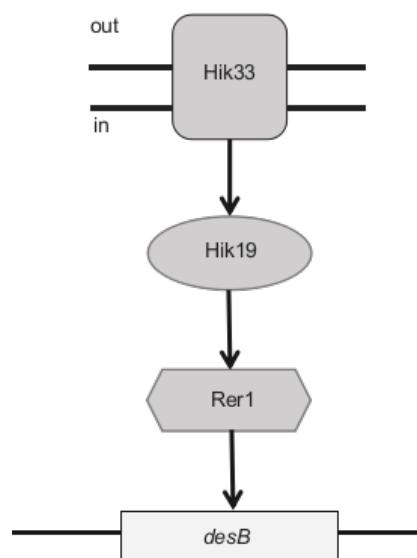


Рис. 2. Схема регуляции холодного ответа. (По Suzuki et al., 2000).

3. Матформирующие цианобактерии способны к выделению большого количества мукополисахаридов во внешнюю среду (exopolimeric substances, EPS) (de los Rios et al., 2004). Синтезированные внеклеточные вещества также защищают клетку, предотвращая нуклеацию льда вблизи ее поверхности (Zakhia et al., 2008). Экспериментально доказана необходимость секреции мукополисахаридов для выживания *Nostoc commune* при замораживании и оттаивании (Tamaru et al., 2005).
4. Синтез РНК-связывающих белков (Rbp, RNA-binding protein), которые, как и белки холодного шока других бактерий (cold-shock proteins, CSP), выполняют роль РНК-шаперонов и способствуют поддержанию уровня трансляции в условиях холодного стресса (Los, Murata, 1999). В эксперименте Sato (1995) было показано, что экспрессия пяти (*rvpA1*, *rbpA2*, *rbpA3*, *rbpB* и *rbpC*) из восьми генов *rbp* *Anabaena variabilis* (штамм М3) индуцируется холодом.
5. Появление в клетке РНК-геликазы, предотвращающей образование вторичных структур в РНК в условиях холодного стресса (Los, Murata, 1999). У *Anabaena* sp. PCC 7120 идентифицировано два гена РНК-геликаз – *ctrB* и *ctrC*. Ген *ctrB* экспрессируется при различных формах стресса (холодовой, солевой, голодание по азоту), в то время как ген *ctrC* экспрессируется только в ответ на снижение температуры (Chamot et al., 1999).

Предполагается вовлечение в фолдинг и процессинг индуцируемых холодом

белков-шаперонов семейства Clp (Caseinolytic proteases) (Los, Murata, 1999). При холодовом стрессе, а также при облучении ультрафиолетом (UV-B), у *Synechococcus* sp. PCC 7942 накапливается большое количество ClpP1. Так, через 24 часа после начала культивирования при низкой температуре, количество этого белка увеличивается в 15 раз (Porankiewicz et al., 2002).

2.2.3. Общая характеристика цианобактерий р. *Pseudanabaena*

Термин «цианобактерии» (греч. κυανός – темно-синий) предложил Р. Стэниер (Stanier, Bazine, 1977). Цианобактерии – грамотрицательные бактерии, содержащие в клетках тилакоидные мембраны, на которых расположен фотосинтетический аппарат. В его состав входят две фотосистемы (как у растений), что позволяет цианобактериям осуществлять кислородный фотосинтез. Сине-зеленый цвет клеткам придают пигменты фикоцианин (синий), аллофикоцианин (синий) и хлорофилл *a*. Кроме того, в клетках цианобактерий могут содержаться фикоэритрин (красный), редкие формы хлорофиллов *b* и *d*, каротиноиды, а также пигменты, не входящие в состав фотосинтетического аппарата, например, сцитонемин (в высоких концентрациях черный) (Zakhia et al., 2008, Vincent, 2009).

Цианобактерии рода *Pseudanabaena* (лат. *pseud* – ложный, греч. *anabaino* – подниматься) относятся к субсекции III, что соответствует порядку *Oscillatoriales* (Пиневиц, 2006). Для этой группы характерны цилиндрические трихомы, клетки в которых делятся в одной плоскости. Трихом может быть покрыт тонким чехлом, а может и не иметь его (Rippka et al., 1979). Клетки имеют бочонковидную форму, вытянутые в длину или изодиаметрические, с округлыми краями. Гетероцист нет, клетки трихома не специализированы, однако апикальные клетки могут быть заостренными. Диаметр трихома в культуре обычно составляет от 1 до 3 мкм. При формировании поперечной перегородки в ходе деления может оставаться узкое соединение между соседними клетками, что придает трихому вид бусин на нитке. Трихомы обычно прямые или слабоизогнутые, могут быть короткими (3–10 клеток) или длинными (более 10 клеток) (Anagnostidis, Komarek, 1988, Pinevich et al., 1997, Castenholz et al., 2001).

Размножение и расселение представителей рода *Pseudanabaena* осуществляется

фрагментацией трихома. Увеличение длины трихома (рост трихома) происходит за счет увеличения числа клеток в процессе деления (Castenholz et al., 2001, Rippka et al., 1979).

При ультраструктурном анализе важной характеристикой представителей рода *Pseudanabaena* является параллельное клеточной стенке расположение периферических тилакоидов. Рядом с поперечной перегородкой единая система тилакоидов может прерываться газовыми везикулами. Многие штаммы обладают полярными газовыми вакуолями, однако этот признак проявляется в зависимости от условий культивирования (Castenholz et al., 2001).

В зависимости от пигментного состава изоляты могут быть сине-зеленого, оливкового и красного цвета (Castenholz et al., 2001). Многие штаммы способны к комплементарной хроматической адаптации (complementary chromatic adaptation), то есть могут изменять пигментный состав в зависимости от условий освещени, а именно соотношение различных форм фикобилипротеинов (Kehoe, Gutu, 2006).

Изоляты цианобактерий рода *Pseudanabaena* получают из разнообразных местообитаний: горячие источники (обычно с температурой воды не выше 55°C), ил и вода морских и пресных водоемов, бескислородные сульфид-содержащие осадки. Помимо планктонного образа жизни, скопления трихомов *Pseudanabaena* могут формировать пленки и плотные маты, образуя матрикс из слизи (Anagnostidis, Komarek, 1988).

Цианобактерии рода *Pseudanabaena* способны к скольжению со скоростью менее 1 мкм/сек. Один из морфотипов *Pseudanabaena galeata* (CCМЕЕ штамм OL-75-Ps) способен к формированию скользящего агрегата трихомов, по форме напоминающего комету (Castenholz et al., 2001).

Все известные формы р. *Pseudanabaena* являются фотоавтотрофами. Некоторые штаммы способны к фиксации азота в отсутствии кислорода (Castenholz et al., 2001).

Цианобактерии рода *Pseudanabaena* характеризуются большим генетическим разнообразием внутри группы: молярный процент GC-пар составляет 42-48%, а размер генома варьирует от $2,14 \times 10^9$ до $5,19 \times 10^9$ Да (Castenholz et al., 2001). Доказана филогенетическая близость с цианобактериями других родов (*Limnothrix*). Анализ генов 16S и 23S рРНК, рибосомального внутригенного спейсера (ribosomal intergenic spacer, IGS), внутреннего транскрибируемого спейсера 1 (internal transcribed spacer 1, ITS-1), оперона

crcBA (содержит гены синтеза фикоцианина) и внутригенного спейсера между *crcA* и *crcB* показал значительное разнообразие внутри группы. Филогенетические деревья, построенные на основе последовательностей 16S и 23 S рРНК, согласуются между собой. Однако при использовании последовательностей других генов структура дерева меняется, что позволяет предположить распространенность рекомбинации внутри этой группы цианобактерий (Acinas et al., 2008).

Целью данной работы является определение некоторых свойств антарктических цианобактерий рода *Pseudanabaena*: в частности, выявление оптимальных температур роста, что позволит сделать вывод об отнесении их к психрофильным или психротолерантным бактериям. Кроме того, анализ последовательностей гена 16S рРНК исследуемых штаммов позволит оценить степень их взаимного филогенетического родства и связь с другими представителями р. *Pseudanabaena*.

3. Материалы и методы исследования

3.1. Объект исследования

Объектом данного исследования являются цианобактерии рода *Pseudanabaena*, депонированные в коллекции CALU (Collection of Algae of Leningrad University) Научного парка Санкт-Петербургского государственного университета. Штаммы 1773, 1785, 1787 и 1791 были выделены из проб, полученных из холодного водоема (озеро Степпед, холмы Ларсеманна, Антарктида, 2014г.). Выделение и культивирование этих штаммов осуществлялось при температуре 8–10 °С. Представители рода *Pseudanabaena* относятся к трихотным бактериям, не способным к формированию дифференцированных клеток в составе трихома. Трихомы состоят из цилиндрических или изодиаметрических (реже дисковидных) клеток, имеющих бочонковидную форму за счет формирования хорошо заметных перетяжек между соседними клетками. На полюсах клеток часто локализуются агрегаты газовых везикул, формирующие газовую вакуоль, сильно преломляющую свет. Линейные размеры и форма клеток у представленных штаммов варьируют (рис. 3 и таблица 2).

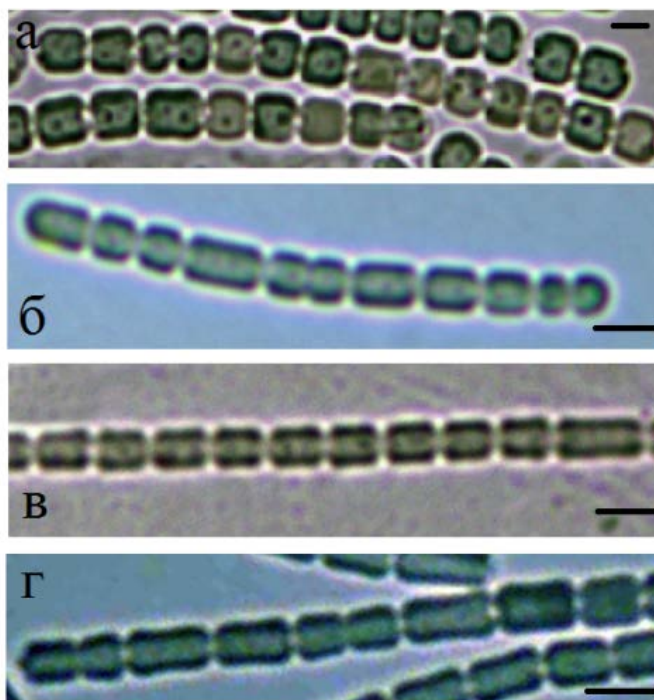


Рис. 3. Микрофотографии антарктических штаммов цианобактерий. а – CALU 1773, б – CALU 1785, в – CALU 1787, г – CALU 1791. Длина шкалы – 2 мкм.

В качестве сравнения в работе использовались штаммы *Pseudanabaena* sp. CALU 1811 и 1812, выделенные из проб, взятых в период летнего цветения воды в Финском заливе в районе деревни Кандикюля (г. Сосновый Бор, Ленинградская область, 2015г.). Выделение и культивирование этих штаммов осуществлялось при температуре 22-24 °С. Морфология этих штаммов представлена на рисунке 4, размеры клеток приведены в таблице 2.

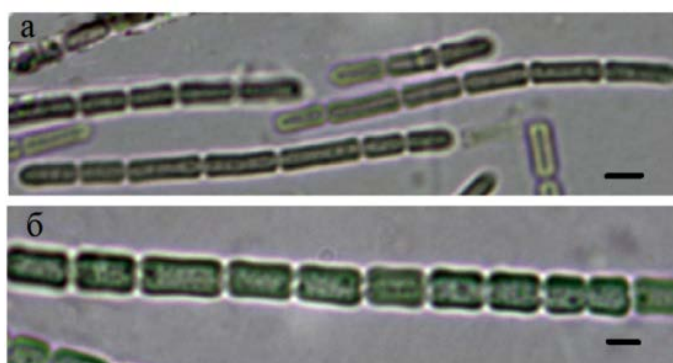


Рис. 4. Микрофотографии штаммов CALU 1811 (а) и 1812 (б). Длина шкалы – 2 мкм. В таблице xxx приведены средние размеры клеток всех исследуемых штаммов при указанных выше температурах культивирования. Клетки штамма CALU 1791 имеют более вытянутую форму, чем клетки штаммов CALU 1785 и 1787. Штамм CALU 1773 отличается от других антарктических штаммов более крупным размером клеток. Наиболее вытянутые в длину клетки у штамма CALU 1811. Только у штамма CALU 1812 средний диаметр клеток немного больше длины.

Таблица 2.

Размеры клеток исследуемых штаммов в исходном состоянии при температурах культивирования в коллекции (в скобках указано значение стандартного отклонения)

	1773	1785	1787	1791	1811	1812
Длина, мкм	2,43 (±0,53)	1,86 (±0,42)	1,69 (±0,57)	1,96 (±0,6)	3,8 (±0,98)	2,31 (±0,38)
Диаметр, мкм	2,44 (±0,36)	1,86 (±0,31)	1,58 (±0,69)	1,51 (±0,2)	1,19 (±0,12)	2,65 (±0,75)

Штаммы поддерживаются в коллекции на полужидкой агаризованной (0,6%) среде BG-11 (таблица 3) при освещении 300–500 лк путем периодических пересевов и хранятся

при температуре 10–12 °С.

Таблица 3.

Состав модифицированной среды BG-11 для цианобактерий (Rippka, 1988).

Вещество	Концентрация, г/л
NaNO ₃	0,3
K ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	0,04
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,036
Лимонная кислота	0,006
Fe ₂ (SO ₄) ₃ ·9H ₂ O	0,006
NH ₄ Cl	0,006
Na ₂ ЭДТА	0,001
Na ₂ CO ₃	0,02
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,075
Раствор микроэлементов (1 мл/л)	
H ₃ BO ₃	0,286
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,181
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,0222
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,039
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,0079
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0,0494

3.2. Культивирование цианобактерий и оценка динамики роста при различных температурах

Для изучения динамики роста исследуемых штаммов цианобактерий в зависимости от температуры проводили культивирование при температурах 4–6, 8–10, 12–13 и 22–24°С. Штаммы выращивали в конических колбах объемом 100 мл, содержащих по 50 мл жидкой среды BG-11, в статичных условиях при постоянном освещении в течение 28 суток при освещении 500 лк. Посевной материал штаммов 1773, 1785, 1787 и 1791 выращивался в жидкой среде при температуре 8–10°С, штаммов 1811 и 1812 – при 22–24°С. Для каждого штамма эксперимент проводился в двух параллелях колб, в трех и более повторностях.

Оценка роста культур цианобактерий осуществлялась путем измерения оптической плотности суспензий в момент посева и через каждые семь суток в течение четырех недель. Для измерения оптической плотности из каждой колбы отбирали аликвоту

объемом 4 мл. Измерения проводили на спектрофотометре СФ26 (ЛОМО) при длине волны 680 нм (в максимуме поглощения хлорофилла *a*), в качестве контроля использовали жидкую среду BG-11.

По окончании культивирования оставшийся объем культур был использован для определения биомассы по сухому весу. Клетки отделяли от культуральной жидкости центрифугированием при 5000 об./мин. в течение 10 минут (Eppendorf 5810R). Осадок клеток промывали ТЕ-буфером (10 мМ TrisHCl, 1 мМ ЭДТА; pH=8), затем центрифугировали при тех же условиях. Осадки ресуспендировали в 2 мл дистиллированной воды, помещали в металлические сосуды с известной массой и высушивали до постоянного веса при температуре 105–115°C. Содержание биомассы по сухому весу выражали в миллиграммах, содержащихся в 50 мл культуры.

Данные по значениям оптической плотности культур и содержанию биомассы, полученные по результатам нескольких экспериментов, усредняли и рассчитывали стандартное отклонение. Хранение и статистическая обработка полученных данных осуществлялись с использованием Microsoft Excel и RStudio (R version 3.4.3).

3.3. Оценка морфологии и размеров клеток *Pseudanabaena* sp. при разных температурах культивирования

Морфологию клеток изучали на микроскопе Leica DM2500, микрофотографии были сделаны при увеличении $\times 1000$ на этом же микроскопе с помощью камеры Leica DFC500. Для измерения клеток были сделаны микрофотографии штаммов CALU 1811, 1812, 1773, 1787 и 1791 в начале культивирования и штаммов CALU 1773, 1785, 1787, 1791 в течение 4 недель через каждые 7 суток. Размер клеток измеряли в программе ImageJ 1.51j8. Для определения среднего размера клеток на данном сроке культивирования было получено не менее 70 измерений. Анализ полученных результатов был осуществлен в среде RStudio (R version 3.4.3).

3.4. Исследование образцов ДНК

Для молекулярно-филогенетического исследования были получены образцы ДНК для

последовательности 16S рРНК штаммов CALU 1773, 1785, 1787, 1791, 1811, 1812. П-олучение образцов включает следующие этапы: выделение тотальной ДНК из биомассы, амплификация последовательности гена 16S рРНК, разделение ДНК электрофорезом в агарозном геле и экстракция исследуемого фрагмента.

3.4.1. Выделение тотальной ДНК из биомассы

Накопление биомассы штаммов для выделения ДНК проводили путем культивирования штаммов в течение 14–21 суток при оптимальной температуре роста, которая для штаммов CALU 1773, 1785, 1787, 1791 составляла 10–12°C, а для штаммов CALU 1811, 1812 – 22–24°C. По окончании культивирования суспензии клеток помещали в одноразовые пробирки объемом 1,5 мл и осаждали на центрифуге Eppendorf Centrifuge 5415R (4000 об./мин., 5 минут). Затем осадки 3–4 раза промывали стерильным ТЕ-буфером и центрифугировали при тех же условиях. Полученные осадки биомассы замораживались и хранились при температуре –20°C для дальнейшего выделения тотальной ДНК.

Для выделения тотальной ДНК СТАВ-методом (Murray, Thompson, 1980) осадки размораживались при комнатной температуре, после чего к ним добавляли 500 мкл лизирующего СТАВ-буфера (2% цетилтриметиламмонийбромид, 0,1 М Трис-НCl, pH 8, 20 мМ ЭДТА, 1,5 М NaCl, 0,2% β-меркаптоэтанол, 2 мкг/мл протеиназа К) и инкубировали при температуре 65°C и постоянном перемешивании в течение 2 часов (Heating/Cooling Dry Block CH100 (Biosan), Centrifuge&Vortex SkyLine (EMLI)). К лизату клеток добавляли равный объем холодной смеси, содержащей хлороформ и изоамиловый спирт в объемном соотношении 24:1, смесь инкубировали при температуре –20°C в течение 30 минут, периодически перемешивая на вортексе. После этого смесь центрифугировали (Eppendorf Centrifuge 5415C, 15 минут, 13500 об./мин.). Водную фазу с ДНК аккуратно переносили в чистые пробирки объемом 1,5 мл. Для осаждения ДНК в пробирки добавляли изопропиловый спирт в количестве 2/3 от объема водной фазы, перемешивали и инкубировали при –20°C в течение ночи, после чего осаждали на центрифуге при тех же условиях. Осадок ДНК дважды промывали 500 мкл 86% раствора этилового спирта,

центрифугируя при тех же условиях. Отмытый осадок ДНК высушивали, после чего растворяли в 20 мкл бидистиллированной воды. Полученные образцы ДНК обрабатывали РНКазой, для этого к ним добавляли по 3 мкл раствора РНКазы (10 мг/мл в 10 мМ Трис-НСl, pH 7,5, 15 мМ NaCl) и инкубировали при температуре 37°C в течение 1 часа. Оценку качества и количества выделенной ДНК проводили путем электрофореза в агарозном геле (описание в разделе 4.3).

3.4.2. Амплификация последовательности гена 16S рРНК

Полученная ДНК была использована в качестве матрицы для амплификации гена 16S рРНК. ПЦР проводилась с универсальными бактериальными праймерами 27F и 1492R (AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG и ACG GYT ACC TTG TTA CGA CTT), позволяющими амплифицировать участок до 1450 п.н. гена 16S рРНК (Lane, 1991; Turner et al., 1999). Для проведения реакции также использовался набор ScreenMix-HS (Евроген, Россия). В состав реакционной смеси объемом 25 мкл входило по 0,1 мкл праймеров (с концентрацией 20 пкмоль/мкл) и 1 мкл ДНК-матрицы. ПЦР проводили в термоциклере MJ MiniGradient Thermal Cycler (BioRad). Схема проведения ПЦР:

1. Предварительная денатурация («hotstart») при 95°C (5 минут);
2. 30 циклов амплификации в режиме: денатурация ДНК при 95°C (1 минута); отжиг праймеров при 54°C (30 секунд); элонгация при 72°C (1 минута 30 секунд);
3. Заключительная стадия элонгации при 72°C (10 минут).

3.4.3. Электрофорез в агарозном геле

Выделенная из клеток ДНК и продукты реакции амплификации разделялись методом электрофореза для оценки качества результатов и для выделения фрагментов из смеси. Электрофорез проводили в агарозном геле (1%, агароза TopVision, Fermentas) в TAE буфере (40 мМ трис-ацетат, pH 8; 2 мМ ЭДТА). Также в гель добавляли интеркалирующий краситель (бромистый этидий, 0,5 мкг/мл). Электрофорез проводили при постоянном напряжении 80В в мини-камере Mini-Sub Cell GT, источник напряжения – Эльф-4

(ДНК-технология). Просмотр результатов осуществлялся с использованием UV трансиллюминатора (2011 Microvue, LKB) и системы гель-документации Gel Imager-2 (Helicon).

При работе с тотальной ДНК 5 мкл пробы смешивали с 1 мкл утяжелителя (Thermo Scientific), содержащего краситель бромфеноловый синий, и наносили в карманы геля. При работе с продуктами ПЦР 5–25 мкл смеси вносили напрямую в карманы геля, так как в состав смеси ScreenMix-HS входит низкомолекулярный краситель и утяжелитель. Для анализа размеров исследуемых фрагментов ДНК использовали наборы ДНК-фрагментов известной длины и концентрации O'Gene Ruler (100–3000 п.н.) (Fermentas, Литва). С этой целью в один из карманов геля вносили 3 мкл ДНК-маркера.

3.4.4. Экстракция исследуемого фрагмента из агарозного геля

Для дальнейшей работы с амплифицированным фрагментом гена 16S рРНК его необходимо выделить из агарозного геля. Для извлечения и очистки исследуемой ДНК использовали набор Nucleospin® Gel & PCR Clean-Up (Macherey Nagel).

Гель визуализировали в ультрафиолете и извлекали фрагмент геля, содержащий продукт ПЦР. Его помещали в микроцентрифужную пробирку и взвешивали, затем добавляли связывающий буфер NT1 (200 мкл на 100 мг геля) и инкубировали при 50 °С до полного растворения геля в термостате Heating/Cooling Dry Block CH100 (Biosan), перемешивая через каждые 2–3 минуты на вортексе Centrifuge&Vortex SkyLine (EMLI). Полученную смесь переносили в спин-колонку, помещенную в собирательную пробирку, и инкубировали 2 минуты при комнатной температуре. Затем смесь центрифугировали для адсорбции ДНК на колонке (Eppendorf Centrifuge 5415R, 30 секунд, 11000 об./мин.). Спин-колонку дважды промывали отмывочным буфером NT3 (500 мкл), центрифугируя при тех же условиях. Остатки буфера удаляли высушиванием, после чего спин-колонку переносили в микроцентрифужную пробирку и проводили элюцию ДНК. Для этого в спин-колонку добавляли 15 мкл элюирующего буфера NE и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 минуты, затем центрифугировали в течение 1 минуты (11000 об./мин.). Полученные образцы ДНК хранили при температуре –20°С.

3.5. Секвенирование и анализ 16S рДНК

Секвенирование амплифицированных фрагментов гена 16s рРНК проводилось в ресурсном центре «Молекулярные и клеточные технологии» Научного парка СПбГУ.

Ферментативная реакция секвенирования проводилась помощью набора реактивов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) по инструкции к набору и термоциклера BioRad C1000. Очистка продуктов реакции секвенирования от несвязавшихся флуоресцентно меченных дидезоксинуклеотидов выполнялась с помощью реактивов BigDye XTerminator Purification Kit (Applied Biosystems). Разделение очищенных продуктов реакции секвенирования проводилось методом капиллярного электрофореза с помощью генетического анализатора ABI310 (Applied Biosystems) в соответствии с рекомендациями к прибору.

Полученные в ходе секвенирования последовательности сравнивали с последовательностями GenBank, используя программу BLAST (Altschul et al., 1990). Построение филогенетических дендрограмм производили с использованием пакета программ MEGA4 (Tamura et al., 2007) методом neighbor-joining на основе анализа 1000 альтернативных деревьев (Saitou, Nei., 1987).

4. Результаты и их обсуждение

4.1. Оценка динамики роста культуры в зависимости от температуры

С целью выявления оптимальных температур роста для исследуемых штаммов было проведено культивирование в течение 28 суток при температурах 4–6, 8–10, 12–13 и 22–24°C. В начале культивирования и через каждые 7 суток осуществлялось измерение оптической плотности культур. Полученные результаты представлены на графиках (рис. 3–8).

Согласно полученным результатам, температура 8–13°C является наиболее оптимальной для роста антарктических штаммов *Pseudanabaena* (CALU 1773, 1785, 1787 и 1791). Более низкая температура культивирования (4–6°C) приводит к замедлению процессов роста и накопления биомассы. Однако для штаммов 1785, 1787, 1791 при температуре 4–6°C регистрируются более высокие значения оптической плотности, чем при росте в мезофильных условиях (22–24°C), что указывает на их толерантность к низким температурам. Для штамма 1773 показатели оптической плотности при температуре 22–24°C оказываются выше, чем при 4–6°C, что указывает на менее выраженную устойчивость к низким температурам у этого штамма.

Для штаммов, которые были выделены из проб, полученных при цветении воды Финского залива (CALU 1811, 1812), характерен активный рост при температуре 22–24°C, при температуре 4–6°C рост очень слабый. Это указывает на мезофильные свойства данных штаммов.

Несмотря на то, что антарктический штамм CALU 1773 растет активнее при температуре 22–24°C, чем при температуре 4–6°C, его рост в последнем случае (рис. 3) выражен сильнее, чем у мезофильных штаммов CALU 1811 и 1812 (рис. 7 и 8). Хотя его устойчивость к низким температурам выражена слабее, чем у штаммов CALU 1785, 1787, 1791, его все же можно отнести к психротолерантным.

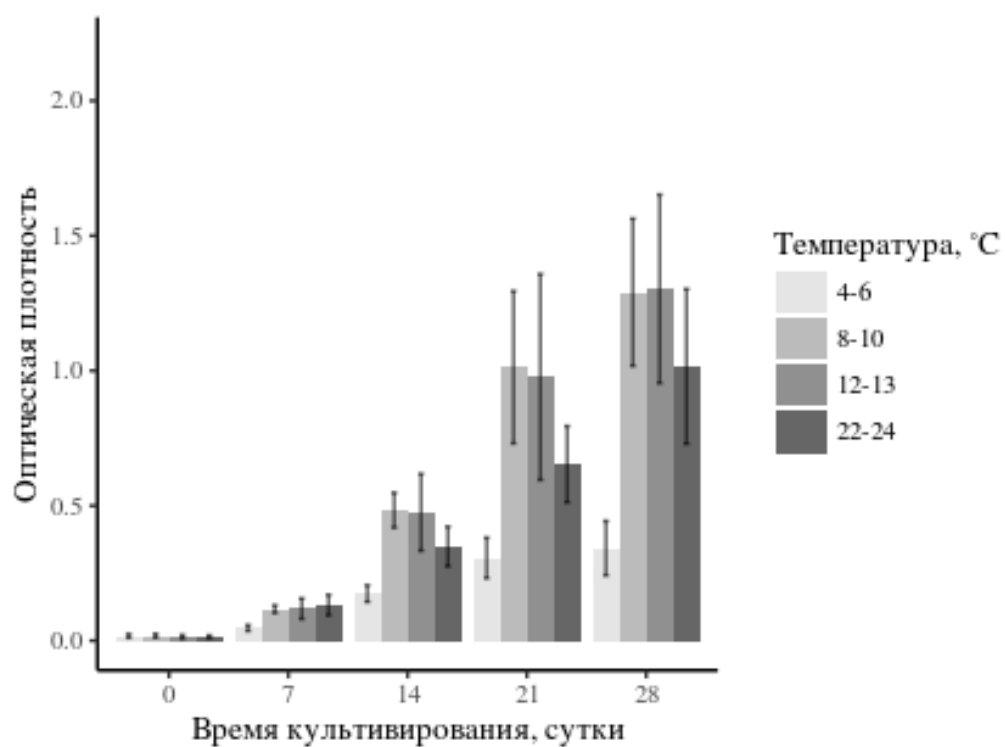


Рис. 3. Динамика роста штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1773 в диапазоне температур 4–24°C.

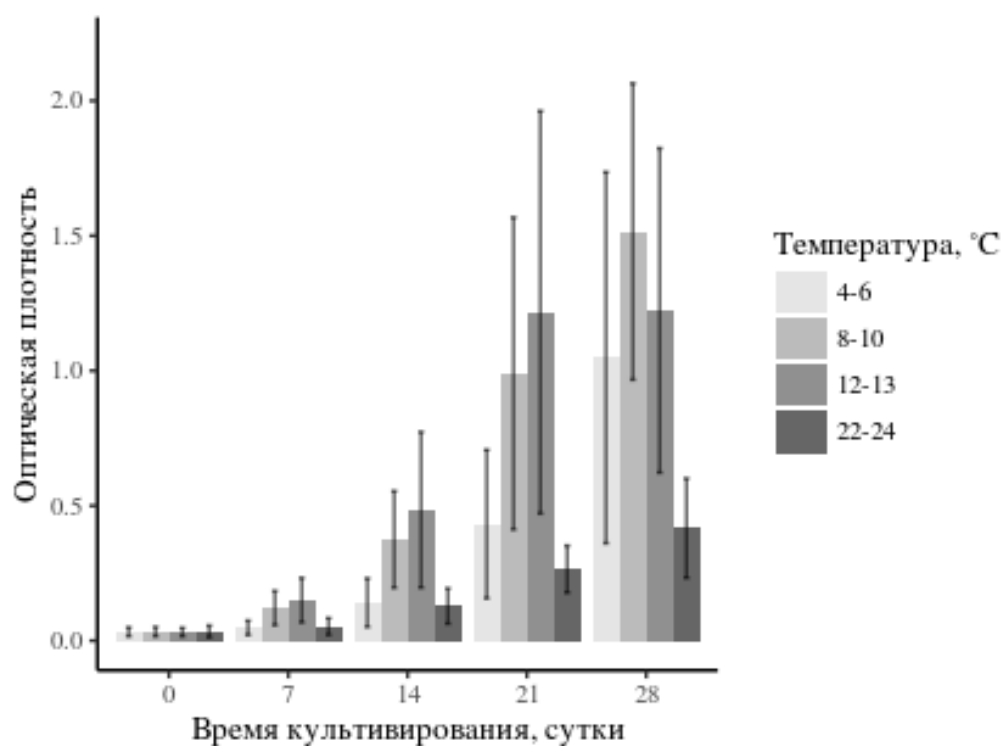


Рис. 4. Динамика роста штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1785 в диапазоне температур 4–24°C.

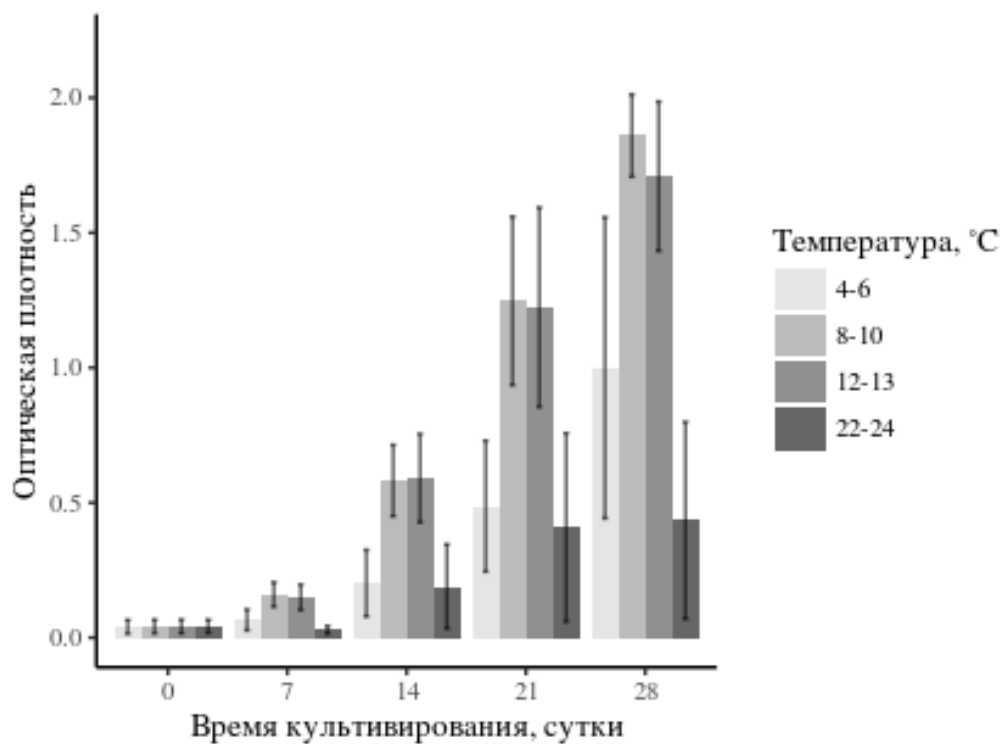


Рис. 5. Динамика роста штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1787 в диапазоне температур 4–24°C.

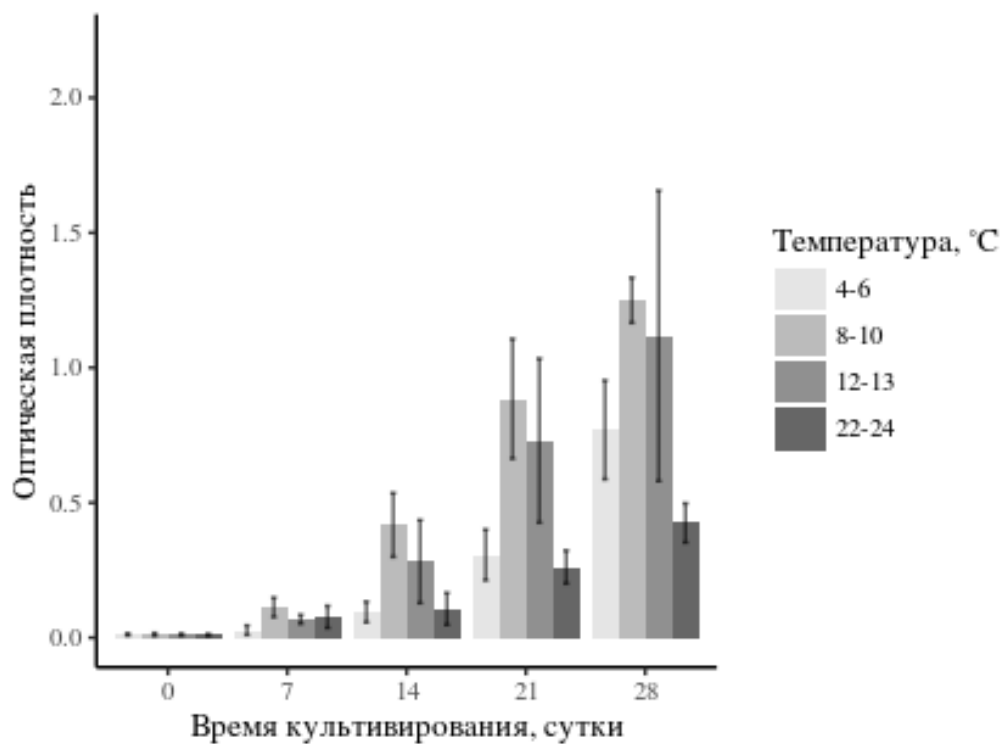


Рис. 6. Динамика роста штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1791 в диапазоне температур 4–24°C.

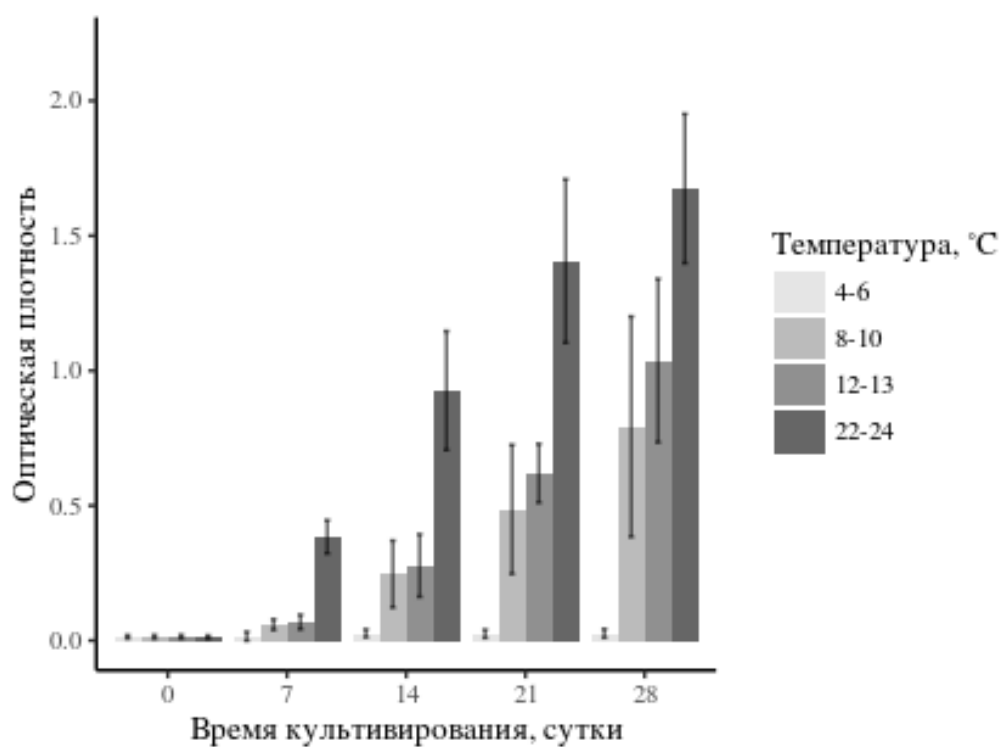


Рис. 7. Динамика роста штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1811 в диапазоне температур 4–24°C.

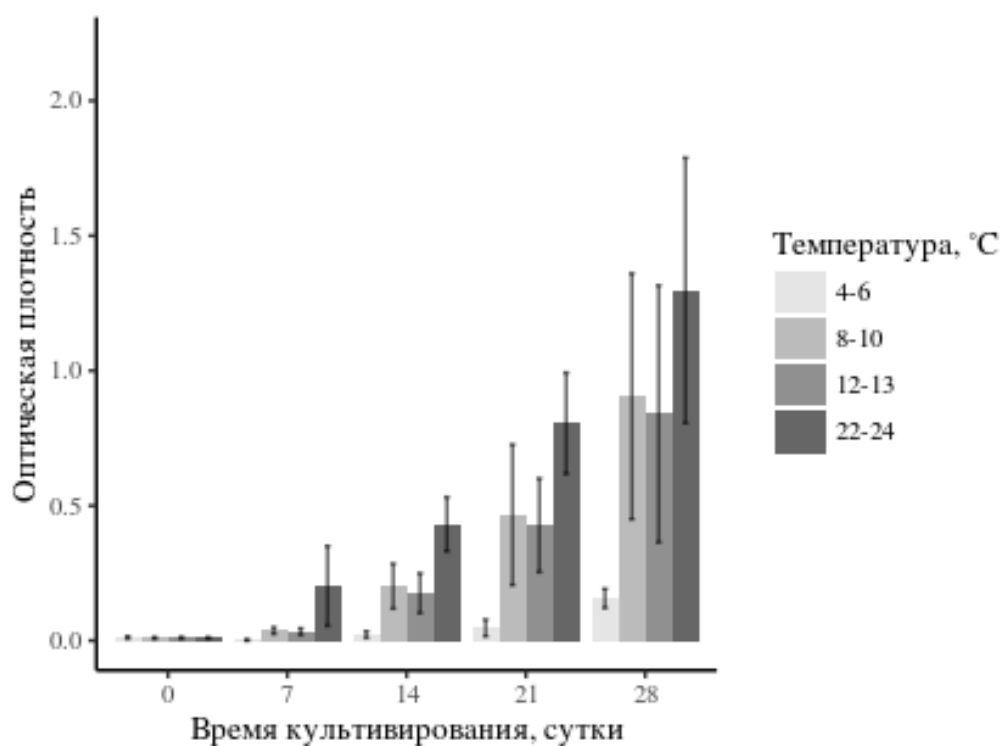


Рис. 8. Динамика роста штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1812 в диапазоне температур 4–24°C.

Полученные результаты согласуются с данными литературы. Считается, что большинство цианобактерий являются не психрофильными, а психротрофными, т.е. оптимальная температура их роста выше 15°C, а максимальная выше 20°C. (Tang, Vincent, 1999; Vincent, 2007; Zakhia et al., 2008) Однако есть данные и о бактериях, оптимальная температура роста которых ниже 10°C, то есть психрофилия действительно встречается у цианобактерий. (Tang et al., 1997; Nadeau, Castenholz, 2000)

В работе Tang с соавторами (1997) было рассмотрено влияние температуры в диапазоне 5-35°C на рост 27 штаммов цианобактерий р. *Oscillatoria* и *Phormidium*. Штаммы были выделены из проб, полученных в арктическом, субарктическом и антарктическом регионах. Динамика роста оценивалась измерением оптической плотности суспензий. Авторы приходят к выводу о распространенности психротолерантности у цианобактерий: лишь 18 из 27 штаммов оказались способными к росту при 5°C.

4.2. Измерение накопленной биомассы по сухому весу

Для дополнительной характеристики роста культур условно психротолерантных цианобактерий оценивалось количество накопленной в процессе культивирования при разных температурах биомассы по сухому весу. Полученные результаты для штаммов CALU 1773, 1785, 1787 и 1791 представлены на графике (рис. 9).

Установлено, что наибольшее количество биомассы антарктические штаммы накапливают при температурах 8–13°C. Штаммы CALU 1785, 1787 и 1791 при температуре 4–6°C накапливают большее количество биомассы, чем при 22–24°C. Штамм 1773 растет активнее при 22–24°C, чем при 4–6°C.

Таким образом, полученные при измерении биомассы по сухому весу данные согласуются с результатами, полученными при измерении оптических плотностей культур в ходе эксперимента.

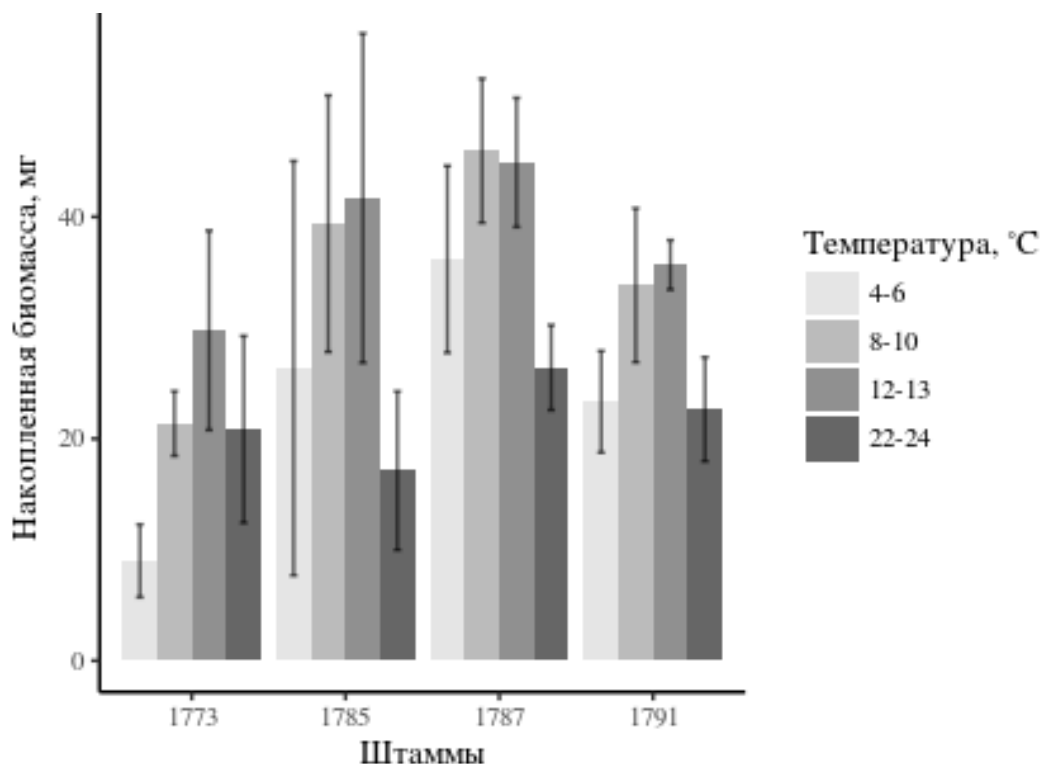


Рис. 9. Количество биомассы по сухому весу (мг) в пересчете на 50 мл культуры, накопленной штаммами CALU 1773, 1785, 1787 и 1791 при разных температурах культивирования.

В работе Nadeau, Castenholz (2000) для проведения оценки темпов роста цианобактерий измеряли и рассчитывали количество биомассы по сухому весу. В отличие от нашего исследования, в этой работе удалось подтвердить психрофильность для двух штаммов цианобактерий р. *Oscillatoria*: максимальное количество накопленной биомассы получено при культивировании при 8°C, при 24°C рост отсутствовал. Однако авторы приходят к выводу, что явление психрофилии у цианобактерий встречается крайне редко, что подтверждается и в нашей работе.

4.3. Морфометрия и анализ морфологии штаммов при различных температурах роста

Для подтверждения того, что некоторые температуры культивирования являются неоптимальными, для штаммов CALU 1773, 1785, 1787 и 1791 была проведена морфометрия и оценка изменений в морфологии. Результаты измерений размеров клеток можно найти в Приложении 1.

Согласно результатам измерения оптической плотности культуры и биомассы по сухому весу, для штамма CALU 1773 температуры 8–10°C и 12–13°C наиболее оптимальны для роста, наименее благоприятной для роста оказалась температура 4–6°C. При оптимальных температурах длина и диаметр клеток, а также значения стандартного отклонения изменяются меньше, чем при культивировании в неблагоприятных для роста условиях (таблицы 1 и 2 в Приложении 1, рис. 10).

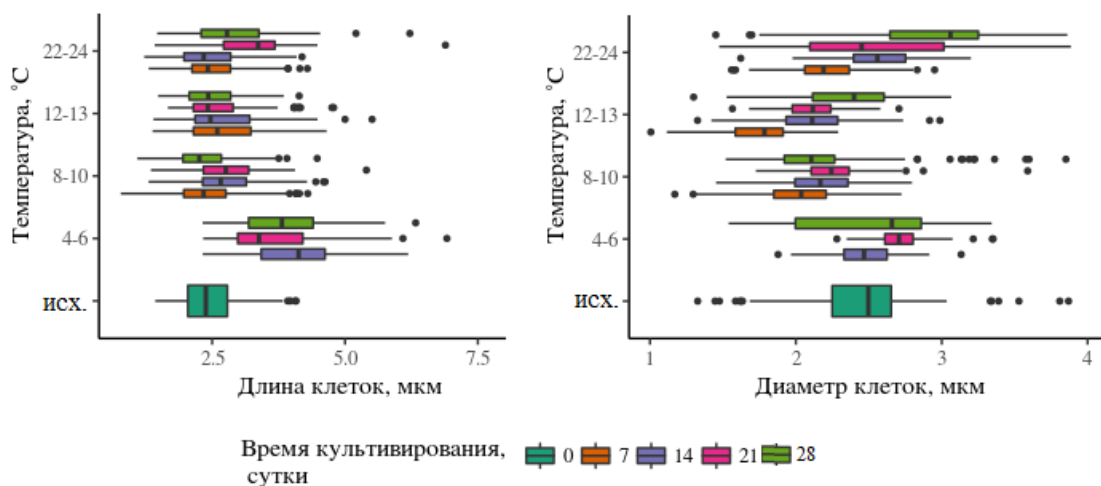


Рис. 10. Длина и диаметр клеток штамма CALU 1773 при разных температурах роста.

При температуре 4–6°C происходит резкое увеличение длины клеток, но диаметр изменяется мало (рис. 11, б). Причиной этого могут быть нарушения в процессе клеточного деления. При температуре 22–24°C длина клеток изменяется меньше, чем при температуре 4–6°C, но резко увеличивается диаметр клеток (рис. 11, в).. Это приводит к «раздуванию» и деформации клеток, что может объясняться нарушением процессов синтеза компонентов оболочки.

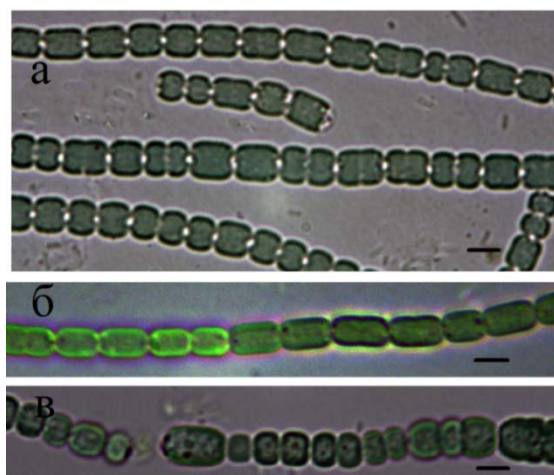


Рис. 11, Микрофотографии штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1773. Особенности морфологии при разных температурах культивирования: а – 28 суток роста при температуре 8-10 °С; б – 14 суток роста при температуре 4-6 °С, в – 28 суток роста при температуре 22-24 °С. Масштаб шкалы – 2 мкм.

Из результатов измерения оптической плотности культуры и биомассы следует, что наиболее активный рост штаммов CALU 1785, 1787 и 1791 наблюдается при температурах 8–13°С, наиболее слабый – при 22–24°С. При оптимальных температурах роста по мере развития культур не происходит значительного изменения размеров клеток. То, что температура 22–24°С является стрессовой для этих штаммов, подтверждается и результатами морфометрии (таблицы 3–8 в Приложении 1, рис. 12–14).

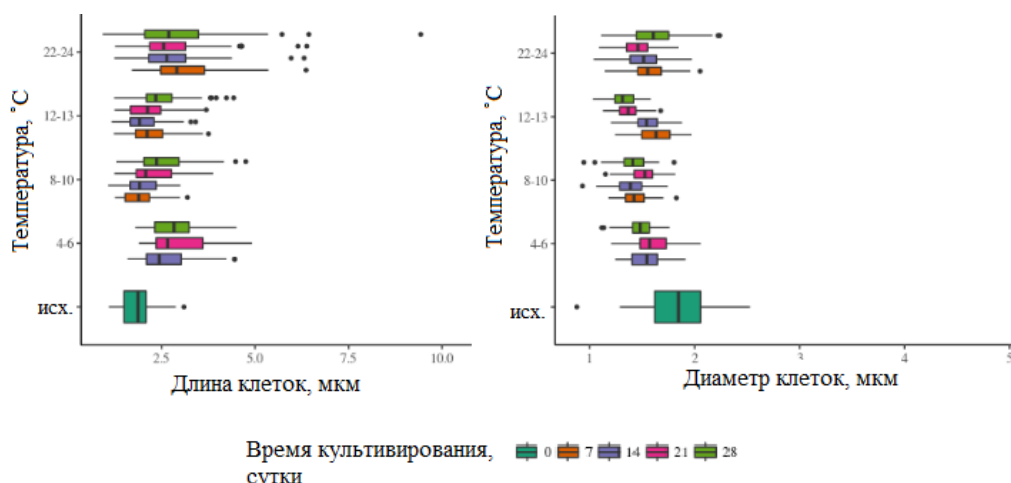


Рис. 12. Размеры клеток штамма CALU 1785 при разных температурах роста.

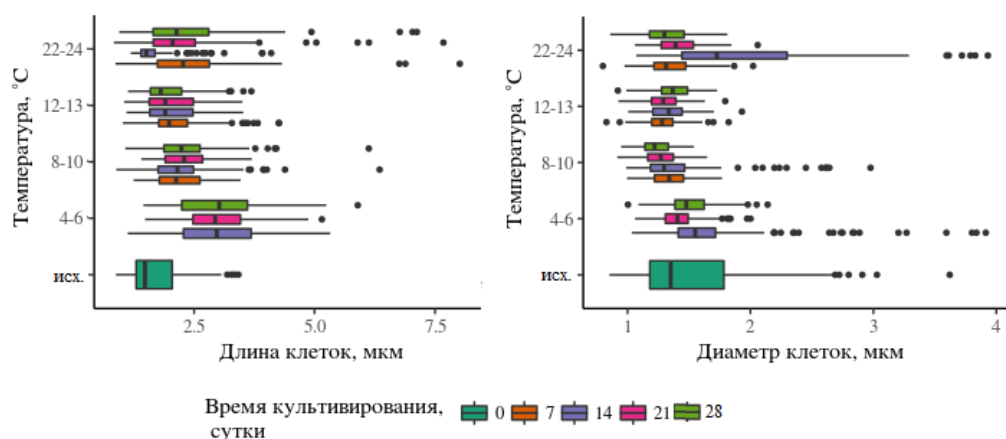


Рис. 13. Размеры клеток штамма CALU 1787 при разных температурах роста.

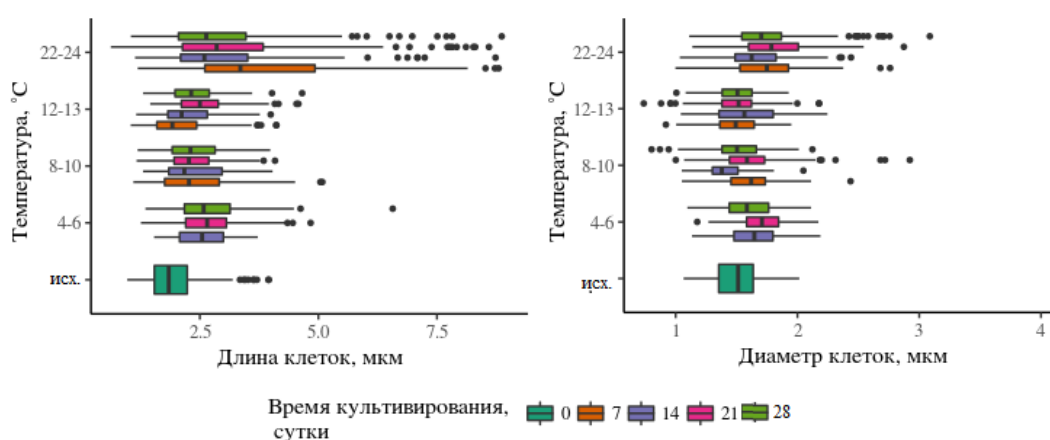


Рис. 14. Размеры клеток штамма CALU 1791 при разных температурах роста.

При культивировании штамма CALU 1785 длина клеток оказывается больше исходных значений независимо от температуры культивирования (рис. 12). Однако при оптимальных температурах (8–13°C) резкое увеличение средней длины клеток происходит только после третьей недели культивирования, что подтверждает благоприятность этих температур для роста штамма. Внешняя морфология клеток трихомов сохраняется неизменной на протяжении всего периода культивирования при температурах 4–6°C (рис. 15, а), 8–10°C (рис. 15, а, в) и 12–13°C (рис. 15, г и рис. 16 б).

Неоптимальная температура роста 22–24°C приводит к увеличению длины клеток на ранних этапах роста (рис. 15, б) и к дальнейшей деформации клеток (рис. 15, д и рис. 16, в, г, д). При этом диаметр клеток фактически не изменяется в ходе культивирования, а изменение длин клеток предположительно связано с нарушением процессов деления. Вероятно, деформация клеток в конце культивирования связана со старением культуры и

истощением питательной среды.

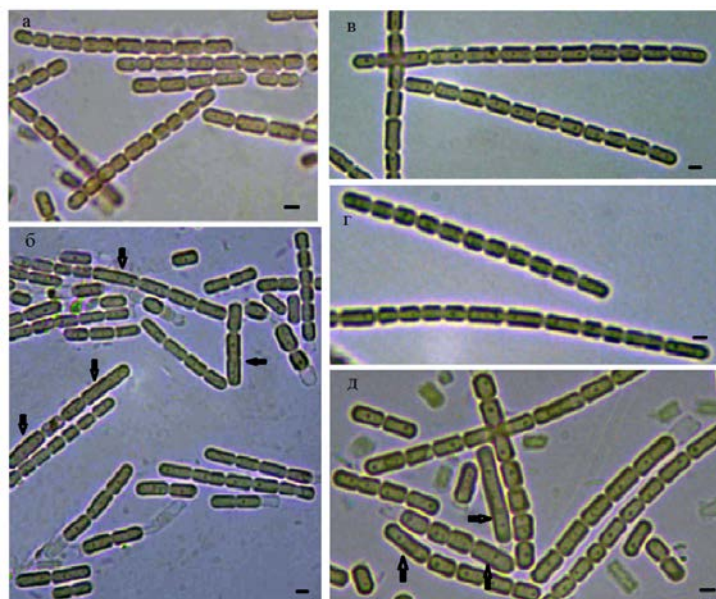


Рис.15. Микрофотографии штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1785. Особенности морфологии при разных температурах культивирования: а, б – 7 суток роста при температурах 8–10°С и 22–24°С соответственно; в, г, д – 21 сутки роста при температурах 8–10°С, 12–13 °С и 22–24°С соответственно, стрелки указывают на клетки с нарушением процесса деления. Масштаб шкалы – 2 мкм.

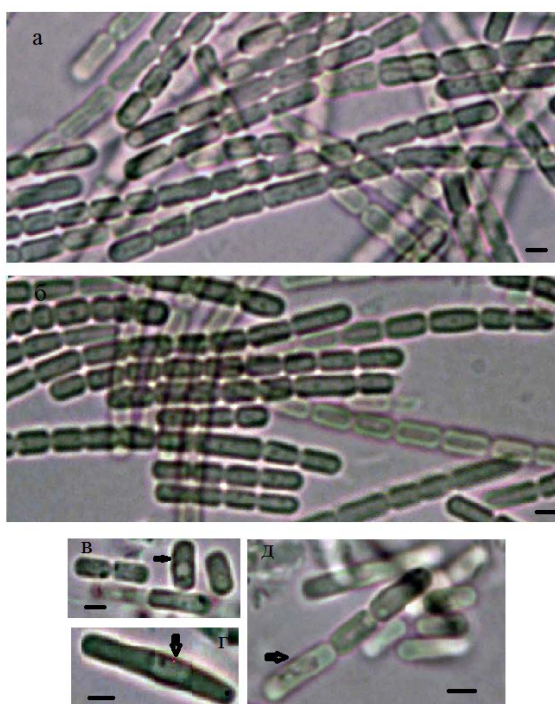


Рис.16. Микрофотографии штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1785. Особенности морфологии при разных температурах культивирования: 28 суток роста при температуре 4–6°С (а); 12–13°С (б) и 22–24°С (в, г, д) соответственно, стрелки указывают на клетки с нарушением процесса деления. Масштаб шкалы – 2 мкм.

В процессе культивирования при комнатной температуре происходит увеличение длины клеток и уменьшение их диаметра у штамма CALU 1787, то есть клетки деформируются (рис. 13 и рис. 17, г, д). Несмотря на то, что этот штамм растет при температуре 4-6°C лучше других, используемых в эксперименте, в этом диапазоне температур морфология клеток также изменяется. Длина клеток штамма CALU 1787 становится больше, чем при других температурах культивирования, ширина при этом изменяется мало (рис. 13). Возможно, причиной этого являются нарушения в процессе клеточного деления. В клетках видны многочисленные включения (рис. 17, б, в).

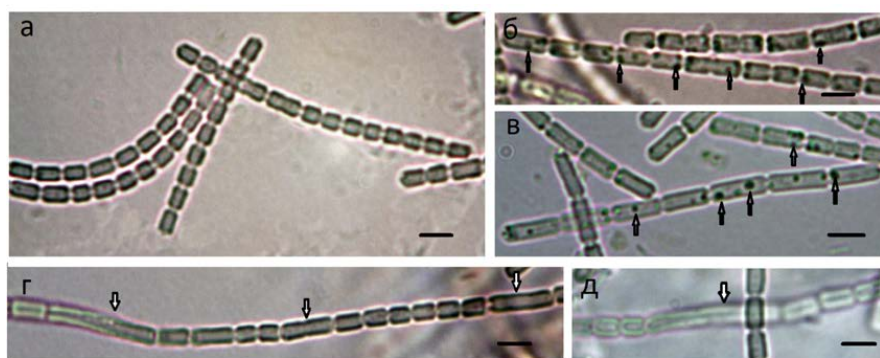


Рис. 17, Микрофотографии штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1787. Особенности морфологии при разных температурах культивирования: а – 21 сутки роста при температуре 12–13°C; б, в – рост при температуре 4–6°C (21 и 28 суток роста соответственно), стрелки указывают на включения; г, д -- рост при температуре 22–24°C (21 сутки роста), стрелки указывают на клетки с нарушением процесса деления. Масштаб шкалы – 2 мкм.

У штамма CALU 1791 при температурах 8–13°C морфология клеток сохраняется неизменной в течение всего времени культивирования (рис. 18). В процессе роста при комнатной температуре резко увеличивается длина клеток и их диаметр, что также свидетельствует о деформации клеток (рис. 14). К концу периода культивирования в культуре накапливаются в большом количестве инволюционные формы клеток (рис. 19, а, б). Длина и диаметр клеток штамма CALU 1791 при температуре 4–6°C фактически не изменяется в сравнении с параметрами клеток при оптимальных температурах роста.

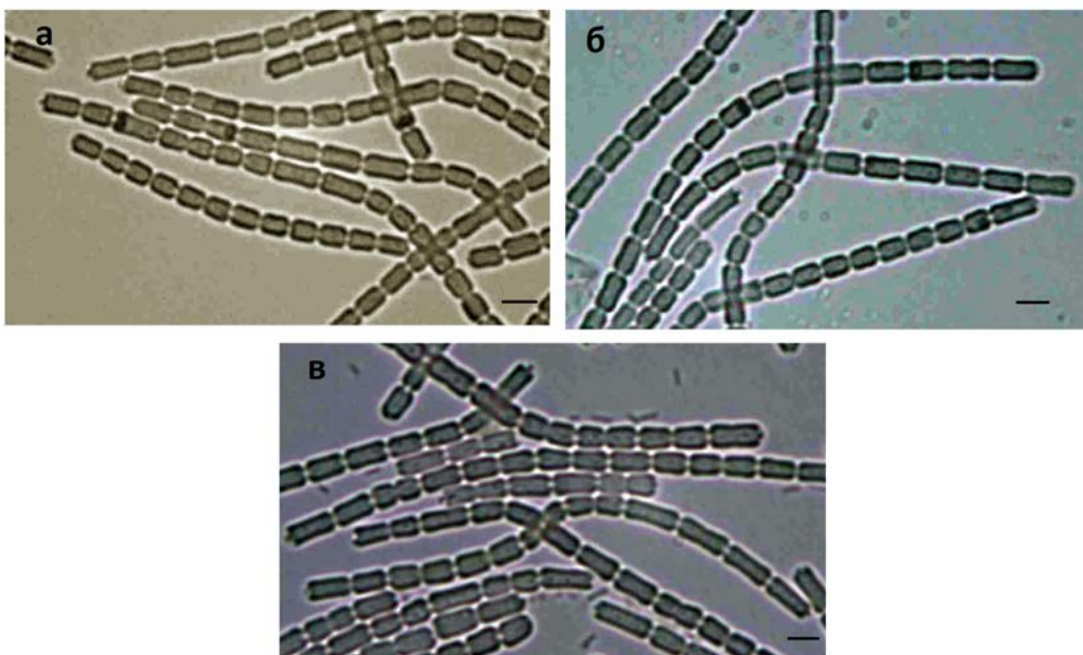


Рис. 18, Микрофотографии штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1791. Морфология трихомов, растущих при температуре: 8–10°C в течение 14 (а) и 21 суток (б); 12–13°C в течение 28 суток (в). Масштаб – 2 мкм.

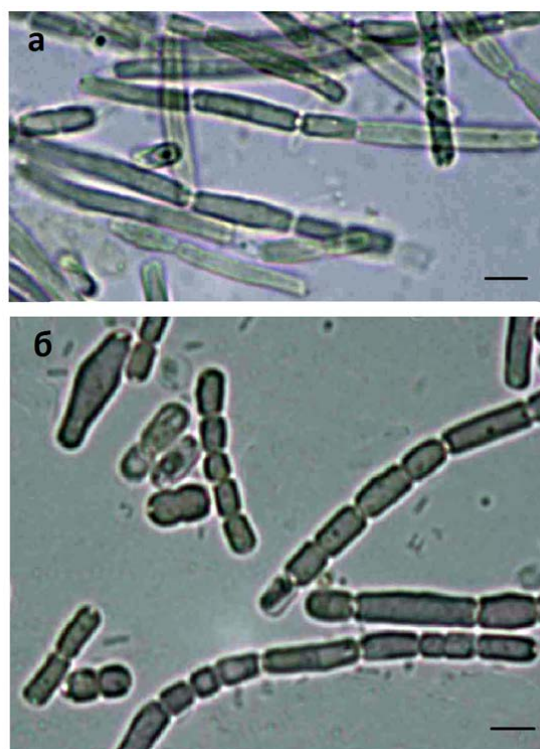


Рис. 19. Микрофотографии штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1791. Особенности морфологии клеток: а – 7 суток, б – 28 суток роста при температуре 22–24°C; клетки с нарушением процесса деления, раздувание клеток. Масштаб шкалы – 2 мкм.

Данные морфометрии и визуальный анализ морфологии клеток в процессе роста при разных температурах позволяют еще раз подчеркнуть, что антарктические штаммы р. *Pseudanabaena* являются не психрофильными, а психротолерантными формами. Наиболее оптимальными для их роста и развития являются температуры 8–13°C, при которых сохраняются классическая морфология и не происходит нарушения процессов роста и размножения. Несмотря на способность штаммов CALU 1773, 1785, 1787 и 1791 расти при комнатной температуре, в культурах наблюдаются значительные искажения в морфологии клеток, что может свидетельствовать о неоптимальности условий культивирования. Температуры 4–6°C поддерживают рост штаммов антарктических цианобактерий, но при этом возможны некоторые изменения морфологии клеток.

4.4. Молекулярно-филогенетический анализ

Для проведения филогенетического анализа антарктических штаммов цианобактерий рода *Pseudanabaena* просеквенированы фрагменты генов 16S рРНК антарктических штаммов (CALU 1773, 1785, 1787, 1791) и штаммов сравнения (CALU 1811, 1812). Длина полученных последовательностей составила около 1350 п.н. Последовательности приведены в Приложении 2. При построении филогенетического дерева также использовались последовательности, найденные в базе GenBank Nucleotide при помощи поиска BLAST (The Basic Local Alignment Search Tool) (Приложение 3). Все штаммы, последовательности гена 16S рРНК которых были взяты из базы данных GenBank, имеют происхождение из мезофильных местообитаний (кроме штаммов *Leptolyngbya frigida* ANT.L53B.2 и *Phormidesmis priestleyi* ANT.LG2.4, имеющих антарктическое происхождение).

Степень сходства последовательностей из базы данных GenBank и исследуемых штаммов оценивалась с использованием BLAST. Результаты приведены в Приложении 4. Ближайшие гомологи исследуемых штаммов со степенью сходства 98% и более приведены в таблице 4.

Таблица 4.

Ближайшие гомологи исследуемых штаммов из базы данных GenBank.

Исследуемый штамм	Ближайшие гомологи из базы данных GenBank	Степень сходства
CALU 1773	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC 6903 <i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6	98%
CALU 1785	<i>Pseudanabaena catenata</i> SAG1464 <i>Pseudanabaena galeata</i> SAG13.83 <i>Pseudanabaena catenata</i> PCC7408 <i>Pseudanabaena foetida</i> PTG, NIES-512 <i>Pseudanabaena</i> sp. PS1303 <i>Pseudanabaena</i> sp. Ak1201 <i>Pseudanabaena</i> sp. 0830-3 <i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6 <i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1	98%
CALU 1787	<i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6 <i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1	98%
CALU 1791	<i>Pseudanabaena catenata</i> SAG1464 <i>Pseudanabaena catenata</i> PCC7408 <i>Pseudanabaena</i> sp. PS1303 <i>Pseudanabaena</i> sp. Ak1201 <i>Pseudanabaena</i> sp. 0830-3 <i>Pseudanabaena galeata</i> SAG13.83 <i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6 <i>Pseudanabaena foetida</i> PTG <i>Pseudanabaena foetida</i> NIES-512 <i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1 <i>Limnothrix</i> sp. Sai002	98%
CALU 1811	<i>Pseudanabaena catenata</i> SAG1464 <i>Pseudanabaena catenata</i> PCC7408 <i>Pseudanabaena</i> sp. PS1303 <i>Pseudanabaena</i> sp. Ak1201 <i>Pseudanabaena</i> sp. 0830-3 <i>Pseudanabaena</i> sp. CZS_47H <i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1	99%
CALU 1812	<i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6 <i>Pseudanabaena foetida</i> PTG <i>Pseudanabaena foetida</i> NIES-512	99%

Данные, представленные в Приложении 4, свидетельствуют о высоком уровне генетического разнообразия внутри группы *Pseudanabaena*. Так, штамм CALU 1773, имеет степень сходства с другими представителями рода в пределах 89–98%, в то время как степень сходства с *Synechococcus* sp. PCC7009 составляет 86%.

Полученные результаты также подтверждают филогенетическую близость цианобактерий рода *Pseudanabaena* с представителями р. *Limnothrix*. Для штаммов с малиновой окраской клеток CALU 1785, 1787, 1791 уровень сходства последовательности гена 16S рРНК с соответствующими последовательностями *Limnothrix* sp. составляет 98%, а для штамма CALU 1811 - 99%. Таким образом, высокая степень сходства с последовательностями *Limnothrix* характерна именно для штаммов с малиновой окраской клеток.

На рисунке 20 представлена дендрограмма, отражающая филогенетические отношения между исследуемыми штаммами и штаммами, последовательности гена 16S рРНК которых депонированы в GenBank. Последовательности антарктических штаммов цианобактерий р. *Pseudanabaena*, имеющих малиновую окраску клеток (штаммы CALU 1785, 1787, 1791) образуют отдельную ветвь. Штамм антарктических цианобактерий с сине-зеленой окраской (CALU 1773) занимает соседнее с вышеуказанной ветвью положение и несколько удален от мезофильного штамма *Pseudanabaena* sp. CALU 1812, имеющего аналогичный пигментный состав. Все указанные штаммы локализованы обособленно от референсных форм рода *Pseudanabaena* (штаммов коллекции PCC). Мезофильный представитель *Pseudanabaena* sp. CALU 1811 достоверно локализуется в другом участке дендрограммы совместно с референсным штаммом *Pseudanabaena* sp. PCC7408, входящим в кластер 3 в составе р. *Pseudanabaena* в соответствии с руководством Берги. Представители других кластеров внутри р. *Pseudanabaena*: *Pseudanabaena* sp. PCC6903 (кластер 1), *Pseudanabaena* sp. PCC7367 (кластер 2), *Pseudanabaena* sp. PCC7403 (кластер 4), *Pseudanabaena* sp. PCC6802 (кластер 5), расположены в других частях дерева (Castenholz et al., 2001).

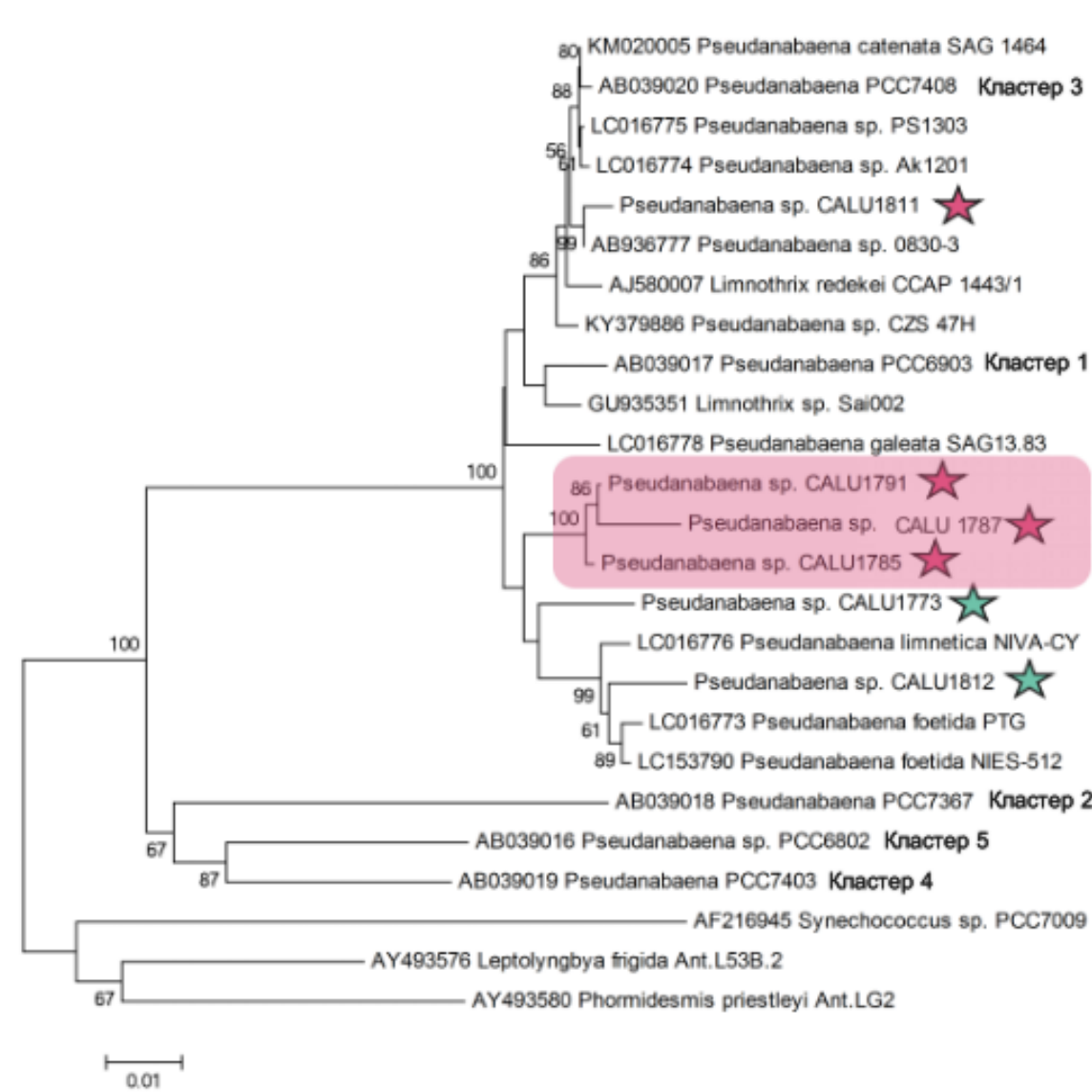


Рис. 20. Филогенетическое дерево, построенное для исследуемых штаммов цианобактерий рода *Pseudanabaena*. Исследуемые штаммы помечены звездочкой, ее цвет соответствует цвету клеток в культуре. Антарктические цианобактерии, имеющие малиновую окраску, образуют кластер (выделены малиновым прямоугольником). Для штаммов из коллекции РСС указана принадлежность кластерам по Берги (Castenholz et al., 2001). Дендрограмма построена методом neighbor-joining, с использованием последовательностей фрагментов гена 16S рРНК размером около 1350 п. н. Масштаб показывает эволюционное расстояние, соответствующее 1 замене на каждые 100 нуклеотидов. Цифрами показана достоверность ветвления 1000 альтернативных деревьев, установленная с помощью bootstrap-анализа (значения ниже 50% не показаны).

5. Выводы

1. Антарктические штаммы CALU 1773, CALU 1785, CALU 1787 и CALU 1791 цианобактерий р. *Pseudanabaena* характеризуются как психротолерантные формы, т.к. они оптимально растут при 8–13°C и могут расти при температуре > 20°C.
2. При культивировании антарктических штаммов р. *Pseudanabaena* в субоптимальных условиях (4–6°C и 22–24°C) нарушаются рост и размножение цианобактерий, что выражается в изменении размера и морфологии клеток.
3. Антарктические штаммы р. *Pseudanabaena* характеризуются значительным полиморфизмом гена 16S рРНК и кластеризуются совместно с мезофильными штаммами.

Список литературы

1. Пиневич А.В. Микробиология. Биология прокариотов. СПб: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2006. 352 с.
2. Солопов А.В. Оазисы в Антарктиде. Наука, 1967. № 14.
3. Acinas S.G., Haverkamp T.H.A., Huisman J., Stal L.J. Phenotypic and genetic diversification of *Pseudanabaena* spp. (cyanobacteria) // The ISME Journal. International Society for Microbial Ecology, 2008. T. 3. C. 31-46.
4. Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. Basic local alignment search tool. // Journal of Molecular Biology, 1990. T. 215. C. 403-410
5. Anagnostidis K., Komárek J. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 3 - Oscillatoriales // Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, 1988. C. 327–472.
6. Blanco Y., Prieto-Ballesteros O., Gomez Manuel J., Moreno-Paz M., Garcia-Villangos M., Rodrigues-Manfredi Jose A., Cruz-Gil P., Sanchez-Roman M., Rivas Luis A., Parro V. Prokaryotic communities and operating metabolisms in the surface and the permafrost of Deception Island (Antarctica) // Environ. Microbiol. Wiley/Blackwell, 2012. T. 14, № 9. C. 2495–2510.
7. Bottos E. M., Scarrow J. W., Archer S. D. J., McDonald I. R., Cary S. C. Bacterial Community Structures of Antarctic Soils // In: Antarctic Terrestrial Microbiology: Physical and Biological Properties of Antarctic Soils (Eds. Cowan D.A. Berlin, Heidelberg), Springer Berlin Heidelberg, 2014. C. 9–33.
8. Buchanan R.E., Fulmer E.I. Physiology and Biochemistry of Bacteria: Effects of Microorganisms Upon Environment, Fermentative and Other Changes Produced. Ballière, Tindall & Cox, 1930.
9. Burgess J.S., Spate A.P., Shevlin J. The onset of deglaciation in the Larsemann Hills, Eastern Antarctica // Antarctic Science. Cambridge University Press, 1994. T. 6, № 4. C. 491–495.

10. Cameron K.A., Hodson A.J., Osborn A.M. Structure and diversity of bacterial, eukaryotic and archaeal communities in glacial cryoconite holes from the Arctic and the Antarctic // FEMS Microbiology Ecology. 2012. T. 82, № 2. C. 254–267.
11. Castenholz R.W., Rippka R., Herdman M., Wilмотte A. Form-genus XII. *Pseudanabaena* (Lauterborn 1916) // In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd edn, Springer Verlag Heidelb, 2001. C. 554–557.
12. Cavicchioli R. On the concept of a psychrophile // The ISME journal. Nature Publishing Group, 2016. T. 10, № 4. C. 793–795.
13. Cavicchioli R., Saunders N., Thomas T. Cold-shock response in microorganisms // In: Extremophiles, T II (Eds. Gerday C., Glansdorff N.), EOLSS Publications, 2009. C. 122-147.
14. Chamot D., Magee W., Esther Y., Owtrim G. A Cold Shock-Induced Cyanobacterial RNA Helicase // Journal of Bacteriology. American Society for Microbiology, 1999. T. 181, № 6. C. 1728–1732.
15. Chan Y., Van Nostrand J. D., Zhou J., Pointing S. B., Farrell R. L. Functional ecology of an Antarctic Dry Valley // Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013. T. 110, № 22. C. 8990-8995.
16. Chintalapati S., Kiran M.D., Shivaji S. Role of membrane lipid fatty acids in cold adaptation // Cellular and molecular biology (Noisy-le-grand), 2004. T. 50, № 5. C. 631–642.
17. Clifton C.E. Introduction to the bacteria // In: Introduction to the bacteria. McGraw Hill Book Co. Inc., 1951. T. 2.
18. Convey P., Smith R.I.L. Responses of terrestrial Antarctic ecosystems to climate change // In: Plants and Climate Change (Eds. Rozema J., Aerts R., Cornelissen H. Dordrecht), Springer Netherlands, 2006. C. 1–12.
19. D'Amico S., Collins, T, Marx J.-C., Feller G., Gerdey C. Psychrophilic microorganisms: challenges for life // EMBO Reports. European Molecular Biology Organization, 2006. T. 7, № 4. C. 385–389.
20. Darling C.A., Siple P.A. Bacteria of Antarctica // Journal of Bacteriology, 1941. T. 42, № 1. C. 83–98.

21. Davey M.C., Davidson H.P.B., Richard K.J., Wynn-Williams D.D. Attachment and growth of antarctic soil cyanobacteria and algae on natural and artificial substrata // *Soil Biology and Biochemistry*, 1991. T. 23, № 2. C. 185–191.
22. de Blij H. A Regional Geography of Antarctica and the Southern Ocean // *University of Miami Law Review*, 1978. T. 33, № 2.
23. de los Ríos A., Ascaso C., Wierzbos J., Fernandes-Valiente E., Quesada A. Microstructural Characterization of Cyanobacterial Mats from the McMurdo Ice Shelf, Antarctica // *Applied and Environmental Microbiology*. American Society for Microbiology, 2004. T. 70, № 1. C. 569–580.
24. Eddy B.P. The use and meaning of the term “psychrophilic” // *Journal of Applied Bacteriology*. Blackwell Publishing Ltd, 1960. T. 23, № 2. C. 189–190.
25. Ellis-Evans J.C. Microbial diversity and function in Antarctic freshwater ecosystems // *Biodiversity and Conservation*, 1996. T. 5. C. 1395–1431.
26. Ellis-Evans J.C., Laybourn-Parry J., Bayliss P.R., Perriss S.J. Physical, chemical and microbial community characteristics of lakes of the Larsemann Hills, Continental Antarctica // *Fundamental and Applied Limnology*. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung, 1998. T. 141, № 2. C. 209–230.
27. Eyre J.W.H. The Elements of bacteriological technique. WB Saunders & Company, 1902.
28. Frazier W.C. Food Microbiology. New York: McGraw-Hill, 1958. 472 c.
29. Fritsen C.H., Priscu J.C. Cyanobacterial assemblages in permanent ice covers on Antarctic lakes: distribution, growth rate and temperature response of photosynthesis // *Journal of Phycology*. Blackwell Publishing Ltd, 1998. T. 34, № 4. C. 587–597.
30. Gilichinsky D.A., Wilson J.S., Friedman E.I., McKay C.P., Sletten R.S., Rivkina E.M., Vishnivetskaya T.A., Erokhina L.G., Ivanushkina N.E., Kochkina G.A., Shcherbakova V.A., Soina V.S., Spirina E.V., Vorobyova E.A., Fyodorov-Davydov D.G., Hallet B., Ozerskaya S.M., Sorokovikov V.A., Laurinavichyus K.S., Shatilovich A.V., Chanton J.P., Ostroumov V.E., Tiedje J.M. Microbial populations in Antarctic permafrost: biodiversity, state, age,

- and implication for astrobiology. // *Astrobiology*. United States, 2007. T. 7, № 2. C. 275–311.
31. Gore D., Pickard J. Oases // In: *Encyclopedia of the Antarctic*, T. I (ed. Riffenburgh B.) New York: Routledge, 2007. C. 679-680.
 32. Howard -William
Ecosystems: Variability in Environmental Properties and Algal Community Structure // *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*. Wiley-Blackwell, 2007. T. 71, № 4. C. 511–544.
 33. Ingraham J.L., Stokes J.L. Psychrophilic bacteria // *Bacteriological reviews*. American Society for Microbiology (ASM), 1959. T. 23, № 3. C. 97–108.
 34. Ingram M. The effect of cold on microorganisms in relation to food // *Proceedings of the Society for Applied Bacteriology*. Blackwell Publishing Ltd, 1951. T. 14, № 2. C. 243–260.
 35. Jungblut A., Hawes I., Mountfort D., Hitzfeld B., Dietrich Daniel R., Burns Brendan P., Neilan Brett A. Diversity within cyanobacterial mat communities in variable salinity meltwater ponds of McMurdo Ice Shelf, Antarctica // *Environmental Microbiology*. Wiley/Blackwell (10.1111), 2005. T. 7, № 4. C. 519–529.
 36. Kehoe D.M., Gutu A. Responding to Color: The Regulation of Complementary Chromatic Adaptation // *Annual Review of Plant Biology*. Annual Reviews, 2006. T. 57, № 1. C. 127–150.
 37. Lane, J. D. 16S/23S rRNA sequencing // *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. Wiley, 1991. C. 125–175.
 38. Leslie A. The Arctic voyages of Adolf Erik Nordenskiöld 1858-1879. London: Macmillan and Co, 1879. 530 c.
 39. Los D.A., Murata N. Responses to Cold Shock in Cyanobacteria // *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 1999. T. 1, № 2. C. 221–230.
 40. Mackay M.A., Norton R.S., Borowitzka L.J. Organic osmoregulatory solutes in cyanobacteria // *Microbiology*. Microbiology Society, 1984. T. 130, № 9. C. 2177–2191.

41. Makhalanyane T.P., Valverde A., Velazquez D., Gunnigle E., Van Goethem M.W., Quesada A., Cowan D.A. Ecology and biogeochemistry of cyanobacteria in soils, permafrost, aquatic and cryptic polar habitats // *Biodiversity and Conservation*, 2015. T. 24, № 4. C. 819–840.
42. McLean A.L. Bacteria of Ice and Snow in Antarctica // *Nature*, 1918. T. 102, № 2550. C. 35–39.
43. Morgan-Kiss R.M., Priscu J.C., Pocock T., Gudynaite-Savitch L., Huner N.P.A. Adaptation and Acclimation of Photosynthetic Microorganisms to Permanently Cold Environments // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2006. T. 70, № 1. C. 222–252.
44. Morita R.Y. Psychrophilic bacteria // *Bacteriological reviews*, 1975. T. 39, № 2. C. 144–167.
45. Müller M.E.D. Über das Wachstum und die Lebenstätigkeit von Bakterien sowie den ablauf fermentativer Prozesse bei niederer Temperatur unter spezieller Berücksichtigung des Fleisches als nahrungsmittel. Druck von R. Oldenbourg, 1903. 127-193 c.
46. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucleic acids research*. Oxford University Press, 1980. T. 8, № 19. C. 4321–4325.
47. Nadeau T.-L., Castenholz R.W. Characterization of psychrophilic oscillatorians (Cyanobacteria) from Antarctic meltwater ponds // *Journal of Phycology*. Blackwell Science Inc, 2000. T. 36, № 5. C. 914–923.
48. Oginsky E.L., Umbreit W.W. An introduction to bacterial physiology. WH Freeman And Company; San Francisco, 1954.
49. Pandey K.D., Shukla S.P., Shukla P.N., Giri D.D., Singh J.S., Singh P., Kashyapp A.K. Cyanobacteria in Antarctica: ecology, physiology and cold adaptation // *Cellular and molecular biology* (Noisy-le-Grand, France), 2004. T. 50, № 5. C. 575–584.
50. Pinevich A.V., Averina S.G., Gavrilova O.V. *Pseudanabaena* sp. with short trichomes: a comment on the occurrence and taxonomic implications of brevitrachomy in oscillatoriale cyanophytes // *Algological Studies*, 1997. T. 86. C. 1-9.

51. Porankiewicz J., Schelin J., Clarke Adrian K. The ATP
for acclimation to UV
Molecular Microbiology. Wiley/Blackwell, 2002. T. 29, № 1. C. 275–283. -depend
-B and
52. Priscu J.C., Adams E.E., Lyons W.B., Voytek M.A., Mogk D.W., Brown R.L., McKay C.P.,
Takacs C.D., Welch K.A., Wolf C.F., Kirshtein J.D., Avcı R. Geomicrobiology of
Subglacial Ice Above Lake Vostok, Antarctica // Science, 1999. T. 286, № 5447. C.
2141-2144.
53. Priscu J.C. Life in the Valley of the “Dead” // Bioscience. Oxford University Press, 1999. T.
49, № 12. C. 959–959.
54. Quesada A., Vincent W.F. Strategies of adaptation by Antarctic cyanobacteria to ultraviolet
radiation // European Journal of Phycology, 1997. T. 32, № 4. C. 335–342.
55. Quesada A., Vincent W.F. Cyanobacteria in the Cryosphere: Snow, Ice and Extreme Cold //
Ecology of Cyanobacteria II. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012. C. 387–399.
56. Reed R.H., Richardson D.L., Warr S.R.C., Stewart W.D.P. Carbohydrate accumulation and
osmotic stress in cyanobacteria // Microbiology. Microbiology Society, 1984. T. 130, № 1.
C. 1–4.
57. Rippka R., Deruelles, J., Waterbury J. B., Herdman M., Stanier R. Y. Generic assignments,
strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria // Microbiology.
Microbiology Society, 1979. T. 111, № 1. C. 1–61.
58. Rippka R. Isolation and purification of cyanobacteria // Methods in Enzymology. Academic
Press, 1988. T. 167. C. 3–27.
59. Roos J.C., Vincent W.F. Temperature dependence of UV radiation effects on Antarctic
cyanobacteria // Journal of Phycology. Blackwell Publishing Ltd, 1998. T. 34, № 1. C. 118–
125.
60. Russell N.J. Psychrophily and resistance to low temperature // In: Extremophiles, T.II (Eds.
Gerday C., Glansdorff N.). Oxford, UK: EOLSS Publishers Co, 2009. C. 1–33.
61. Saitou N1, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing
phylogenetic trees. // Molecular Biology and Evolution, 1987. T. 4(4). C. 406-425.

62. Sato N. A family of cold-regulated RNA-binding protein genes in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* M3. // Nucleic Acids Research. 1995. T. 23, № 12. C. 2161–2167.
63. Schmidt-Nielsen S. Über einige psychrophile Mikroorganismen und ihr Vorkommen // Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene Abteilung, 1902. T. 119. C. 145–147.
64. Scott R.F. The Voyage of the Discovery, T II. London. Macmillan publishers, 1905.
65. Seaburg K.G., Parked B.C., Wharton R.A., Simmons G.M. Temperature-growth responses of algal isolates from Antarctic oases // Journal of Phycology. Blackwell Publishing Ltd, 2008. T. 17, № 4. C. 353–360.
66. Shehata T.E., Marr A.G. Effect of Temperature on the Size of Escherichia coli Cells // Journal of Bacteriology, 1975. T. 124, № 2. C. 857–862.
67. Sieburth J.M. Gastrointestinal microflora of antarctic birds // Journal of Bacteriology, 1959. T. 77, № 5. C. 521–531.
68. Singh S.M., Elster J. Cyanobacteria in Antarctic Lake Environments // In: Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments (Ed. Seckbach J.). Dordrecht: Springer Netherlands, 2007. C. 303–320.
69. Stanier R.Y., Bazine G.C. Phototrophic Prokaryotes: The Cyanobacteria // Annual Review of Microbiology, 1977. T. 31, № 1. C. 225–274.
70. Stephenson A. The southern journey // Southern lights: official account British Graham land expedition. Chatto and Windus, London, 1938. C. 1934–1937.
71. Stibal M., Šabacká M., Kaštovská K. Microbial Communities on Glacier Surfaces in Svalbard: Impact of Physical and Chemical Properties on Abundance and Structure of Cyanobacteria and Algae // Microbial Ecology, 2006. T. 52, № 4. C. 644.
72. Straka R.P., Stokes J.L. Psychrophilic bacteria from Antarctica // Journal of Bacteriology. American Society for Microbiology (ASM), 1960. T. 80, № 5. C. 622–625.
73. Suzuki I., Los D.A., Kanesaki Y., Mikami K., Murata N. The pathway for perception and transduction of low-temperature signals in Synechocystis // The EMBO Journal. Oxford, UK: Oxford University Press, 2000. T. 19, № 6. C. 1327–1334.

74. Tamaru Y., Takani Y., Yoshida T., Sakamoto T. Crucial Role of Extracellular Polysaccharides in Desiccation and Freezing Tolerance in the Terrestrial Cyanobacterium *Nostoc commune* // *Applied and Environmental Microbiology*. American Society for Microbiology, 2005. T. 71, № 11. C. 7327–7333.
75. Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., Kumar, S. MEGA4 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis. // *Molecular Biology and Evolution*, 2007. T. 24(8). C. 1596-1599.
76. Tang E.P.Y., Tremblay R., Vincent W.F. Cyanobacterial dominance of polar freshwater ecosystems: are high-latitude mat-formers adapted to low temperature? // *Journal of Phycology*. Blackwell Publishing Ltd, 1997. T. 33, № 2. C. 171–181.
77. Tang E.P.Y., Vincent W.F. Strategies of thermal adaptation by high-latitude cyanobacteria // *New Phytol*. Cambridge University Press, 1999. T. 142, № 2. C. 315–323.
78. Taton A., Grubisic S., Brambilla E., De Wit R., Wilmotte A. Cyanobacterial Diversity in Natural and Artificial Microbial Mats of Lake Fryxell (McMurdo Dry Valleys, Antarctica): a Morphological and Molecular Approach // *Applied and Environmental Microbiology*. American Society for Microbiology, 2003. T. 69, № 9. C. 5157–5169.
79. Turner S., Pryer K.M., Miao V.P., Palmer J.D. Investigating deep phylogenetic relationships among cyanobacteria and plastids by small subunit rRNA sequence analysis // *The Journal of eukaryotic microbiology*. T. 46, № 4. C. 327–338.
80. Van Trappen S., Mergaert J., Van Eygen S., Dawyndt P., Cnockaert M.C., Swings J. Diversity of 746 Heterotrophic Bacteria Isolated from Microbial Mats from Ten Antarctic Lakes // *Systematic and Applied Microbiology*, 2002. T. 25, № 4. C. 603–610.
81. Vincent W.F. *Cyanobacteria* // *Encyclopedia of inland waters*. Oxford: Elsevier, 2009. C. 226–232.
82. Vincent W.F., Hobbie J.E., Laybourn-Parry J. Introduction to the Limnology of High-latitude Lake and River Ecosystems // In: *Polar Lakes and Rivers: Limnology of Arctic and Antarctic Aquatic Ecosystems*. Oxford University Press, 2008. T.I. C. 1–18.
83. Vincent W.F. *Microbial ecosystems of Antarctica* // *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. Cambridge University Press, 1988. T. 69, № 2. 304 c.

84. Vincent W.F. Cold Tolerance in Cyanobacteria and Life in the Cryosphere // In: *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments. Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology* (Ed. Seckbach J.). Springer, Dordrecht, 2007. C. 287–301.
85. Vinocur A., Pizarro H. Periphyton flora of some lotic and lentic environments of Hope Bay (Antarctic Peninsula) // *Polar Biology*, 1995. T. 15, № 6. C. 401–414.
86. Wada H., Compos Z., Murata N. Enhancement of chilling tolerance of a cyanobacterium by genetic manipulation of fatty acid desaturation // *Nature*. Nature Publishing Group, 1990. T. 347, № 6289. C. 200–203.
87. Warr S.R.C., Reed R.H., Stewart W.D.P. Osmotic adjustment of cyanobacteria: the effects of NaCl, KCl, sucrose and glycine betaine on glutamine synthetase activity in a marine and a halotolerant strain // *Microbiology*. Microbiology Society, 1984. T. 130, № 9. C. 2169–2175.
88. Welsh D.T. Ecological significance of compatible solute accumulation by microorganisms: from single cells to global climate // *FEMS Microbiology Reviews*. Wiley/Blackwell, 2006. T. 24, № 3. C. 263–290.
89. Wharton R.A., Parker B.C., Simmons G.M. Distribution, species composition and morphology of algal mats in Antarctic dry valley lakes // *Phycologia*. The International Phycological Society, 1983. T. 22, № 4. C. 355–365.
90. Won Hong J., Hong Kim S., Choi H.-G., Kang S.-H., Yoon H.-S. Isolation and description of a globally distributed cryosphere cyanobacterium from Antarctica // *Polar Research*. Routledge, 2013. T. 32, № 1. C. 18529.
91. Wood S.A., Rueckert A., Cowan D.A., Cary S.C. Sources of edaphic cyanobacterial diversity in the Dry Valleys of Eastern Antarctica // *ISME Journal*. International Society for Microbial Ecology, 2008. T. 2. C. 308.
92. Wynn-Williams D.D. Antarctic microbial diversity: the basis of polar ecosystem processes // *Biodiversity and Conservation*, 1996. T. 5, № 11. C. 1271–1293.
93. Zakhia F., Jungblut A., Taton A., Vincent W., Wilmotte A. Cyanobacteria in Cold Ecosystems // In: *Psychrophiles: from Biodiversity to Biotechnology*. 1st ed. / (Eds.

Margesin, R., Schinner, F., Marx, J.-C., Gerday C). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008. C. 121–132.

Приложение 1

Таблица 1.

Средние значения длин клеток штамма CALU 1773 с указанием значений стандартного отклонения.

Время культивирования / Температура	Начало культивирования	7 суток	14 суток	21 сутки	28 суток
4-6 °C	2,43 ($\pm 0,53$)	-	4,08 ($\pm 0,79$)	3,7 (± 1)	3,87 ($\pm 0,9$)
8-10 °C	2,43 ($\pm 0,53$)	2,38 ($\pm 0,65$)	2,75 ($\pm 0,62$)	2,78 ($\pm 0,62$)	2,34 ($\pm 0,52$)
12-13 °C	2,43 ($\pm 0,53$)	2,71 ($\pm 0,68$)	2,7 ($\pm 0,73$)	2,57 ($\pm 0,61$)	2,48 ($\pm 0,55$)
22-24 °C	2,43 ($\pm 0,53$)	2,52 ($\pm 0,59$)	2,44 ($\pm 0,64$)	3,19 ($\pm 0,74$)	2,88 ($\pm 0,81$)

Таблица 2.

Средние значения диаметров клеток штамма CALU 1773 с указанием значений стандартного отклонения .

Время культивирования / Температура	Начало культивирования	7 суток	14 суток	21 сутки	28 суток
4-6 °C	2,44 ($\pm 0,36$)	-	2,47 ($\pm 0,21$)	2,72 ($\pm 0,19$)	2,51 ($\pm 0,49$)
8-10 °C	2,44 ($\pm 0,36$)	2,03 ($\pm 0,28$)	2,17 ($\pm 0,26$)	2,24 ($\pm 0,23$)	2,17 ($\pm 0,41$)
12-13 °C	2,44 ($\pm 0,36$)	1,57 ($\pm 0,26$)	2,12 ($\pm 0,28$)	2,12 ($\pm 0,20$)	2,34 ($\pm 0,34$)
22-24 °C	2,44 ($\pm 0,36$)	2,20 ($\pm 0,26$)	2,56 ($\pm 0,26$)	2,65 ($\pm 0,83$)	3,12 ($\pm 0,8$)

Таблица 3.

Средние значения длин клеток штамма CALU 1785 с указанием значений стандартного отклонения.

Время культивирования / Температура	Начало культивирования	7 суток	14 суток	21 сутки	28 суток
4-6 °C	1,86 ($\pm 0,42$)	-	2,63 ($\pm 0,70$)	2,94 ($\pm 0,78$)	2,83 ($\pm 0,61$)
8-10 °C	1,86 ($\pm 0,42$)	1,94 ($\pm 0,47$)	2,02 ($\pm 0,50$)	2,28 ($\pm 0,61$)	2,54 ($\pm 0,76$)
12-13 °C	1,86 ($\pm 0,42$)	2,20 ($\pm 0,54$)	1,99 ($\pm 0,49$)	2,15 ($\pm 0,59$)	2,51 ($\pm 0,61$)
22-24 °C	1,86 ($\pm 0,42$)	3,11 ($\pm 0,9$)	2,86 ($\pm 1,47$)	2,75 ($\pm 0,95$)	2,91 ($\pm 1,31$)

Таблица 4.

Средние значения диаметров клеток штамма CALU 1785 с указанием значений стандартного отклонения .

Время культивирования / Температура	Начало культивирования	7 суток	14 суток	21 сутки	28 суток
4-6 °C	1,86 ($\pm 0,31$)	-	1,53 ($\pm 0,17$)	1,59 ($\pm 0,18$)	1,47 ($\pm 0,13$)
8-10 °C	1,86 ($\pm 0,31$)	1,43 ($\pm 0,13$)	1,38 ($\pm 0,15$)	1,50 ($\pm 0,13$)	1,41 ($\pm 0,16$)
12-13 °C	1,86 ($\pm 0,31$)	1,63 ($\pm 0,17$)	1,54 ($\pm 0,14$)	1,36 ($\pm 0,12$)	1,32 ($\pm 0,12$)
22-24 °C	1,86 ($\pm 0,31$)	1,57 ($\pm 0,17$)	1,51 ($\pm 0,18$)	1,46 ($\pm 0,17$)	1,63 ($\pm 0,24$)

Таблица 5.

Средние значения длин клеток штамма CALU 1787 с указанием значений стандартного отклонения.

Время культивирования / Температура	Начало культивирования	7 суток	14 суток	21 сутки	28 суток
4-6 °C	1,69 ($\pm 0,57$)	-	2,95 ($\pm 1,01$)	3,02 ($\pm 0,74$)	3 ($\pm 0,88$)
8-10 °C	1,69 ($\pm 0,57$)	2,23 ($\pm 0,57$)	2,19 ($\pm 0,76$)	2,31 ($\pm 0,5$)	2,30 ($\pm 0,68$)
12-13 °C	1,69 ($\pm 0,57$)	2,13 ($\pm 0,56$)	2,03 ($\pm 0,56$)	2,02 ($\pm 0,56$)	1,95 ($\pm 0,53$)
22-24 °C	1,69 ($\pm 0,57$)	2,36 ($\pm 0,97$)	1,7 ($\pm 0,58$)	2,34 ($\pm 1,22$)	2,44 ($\pm 1,25$)

Таблица 6.

Средние значения диаметров клеток штамма CALU 1787 с указанием значений стандартного отклонения.

Время культивирования / Температура	Начало культивирования	7 суток	14 суток	21 сутки	28 суток
4-6 °C	1,58 ($\pm 0,69$)	-	1,8 ($\pm 0,79$)	1,41 ($\pm 0,16$)	1,51 ($\pm 0,2$)
8-10 °C	1,58 ($\pm 0,69$)	1,33 ($\pm 0,16$)	1,4 ($\pm 0,35$)	1,27 ($\pm 0,14$)	1,23 ($\pm 0,13$)
12-13 °C	1,58 ($\pm 0,69$)	1,29 ($\pm 0,15$)	1,34 ($\pm 0,15$)	1,31 ($\pm 0,15$)	1,37 ($\pm 0,16$)
22-24 °C	1,58 ($\pm 0,69$)	1,35 ($\pm 0,2$)	2,49 ($\pm 1,77$)	1,41 ($\pm 0,18$)	1,32 ($\pm 0,21$)

Таблица 7.

Средние значения длин клеток штамма CALU 1791 с указанием значений стандартного отклонения.

Время культивирования / Температура	Начало культивирования	7 суток	14 суток	21 сутки	28 суток
4-6 °C	1,96 ($\pm 0,6$)	-	2,56 ($\pm 0,56$)	2,69 ($\pm 0,67$)	2,69 ($\pm 0,75$)
8-10 °C	1,96 ($\pm 0,6$)	2,42 ($\pm 0,83$)	2,38 ($\pm 0,72$)	2,36 ($\pm 0,56$)	2,41 ($\pm 0,61$)
12-13 °C	1,96 ($\pm 0,6$)	2,08 ($\pm 0,66$)	2,23 ($\pm 0,56$)	2,54 ($\pm 0,61$)	2,36 ($\pm 0,53$)
22-24 °C	1,96 ($\pm 0,6$)	4,81 ($\pm 3,25$)	3,29 ($\pm 2,45$)	3,53 ($\pm 2,18$)	3,27 ($\pm 2,18$)

Таблица 8.

Средние значения диаметров клеток штамма CALU 1791 с указанием значений стандартного отклонения.

Время культивирования / Температура	Начало культивирования	7 суток	14 суток	21 сутки	28 суток
4-6 °C	1,51 ($\pm 0,2$)	-	1,64 ($\pm 0,22$)	1,71 ($\pm 0,19$)	1,6 ($\pm 0,22$)
8-10 °C	1,51 ($\pm 0,2$)	1,59 ($\pm 0,21$)	1,4 ($\pm 0,17$)	1,6 ($\pm 0,26$)	1,5 ($\pm 0,23$)
12-13 °C	1,51 ($\pm 0,2$)	1,5 ($\pm 0,2$)	1,58 ($\pm 0,28$)	1,51 ($\pm 0,22$)	1,5 ($\pm 0,19$)
22-24 °C	1,51 ($\pm 0,2$)	1,74 ($\pm 0,29$)	1,64 ($\pm 0,30$)	1,81 ($\pm 0,30$)	1,75 ($\pm 0,32$)

Приложение 2

Нуклеотидная последовательность гена 16S рPHK штамма CALU 1773 (длина последовательности - 1392 п.н.).

CGGTGGGGAAGCTTACACATGCAGTCGAACGGTCTCTTCGGAGATAGTGGCGGACG
GGTGAGTAACGCGTAAGAATCTACCTACAGGTTTCGGGACAACAGTTAGAAATGGACT
GCTAATACCGGATGTGCCGAGAGGTGAAAGCTTTAGTGCCTGTAGATGAGCTTGCGT
CCGATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCCTACCATGGCGACGATCGGTAGCTTGGTCT
TGAGAGGATGACCAGTCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGG
CAGCAGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATACCGCGTGA
GGGACGAAGGTCTGTGGATTGTAAACCTCTTTTGTGGGGGAAGATAATGACGGTACC
CAACGAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGGAGGATGC
AAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGTACGTAGGCTGTTTCATAAGTCTGTT
GTCAAAGCGCGAGGCTCAACCTTGTAAGGCAATGGAACTGCGAGACTAGAGAGA
GATAGGGGCAGGAGGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTGGAAGA
ACACCAGTGGCGAAAGCGTCCTGCTGGATCTCAACTGACGCTGAAGTACGAAAGCT
AGGGGAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGGTACTA
GGTGTGTTGGTCGTATCGACCCGATCAGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTACCCCGCCT
GGGGAGTACGGTCGCAA-GATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCC-GCACAAG
C-GGTGGAGTATGTGGTTTAATT-CGATGCAACGCGAAGAA---CCTTACCAAGGCTTGA
CATGTCTGGAATCCTCTTGAAAGGGAGGAGTGCCTTCGGGAGCCAGAACACAGGTG
GTGCATGGCTGTTCGTACGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGC
GCAACCCTCGTTTTTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAGAGAGACTGCCGGT
GACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCTTACGCCTTGG
GCTACACACGTACTACAATGGCCGGGACAAAGAGTCGCAAGCATGCGAATGCAAGC
TAATCTCATAAACCCGGTCTTAGTTCAGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAG
GCGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTT
GTACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGCTGGTCACGCCCAGGTCGTTATCTCAAC
CCGTAAGGGAGGGAGGCGCCTAAGCTGTCTG

Нуклеотидная последовательность гена 16S рPHK штамма CALU 1785 (длина последовательности - 1381 п.н.).

CGTCGGCAGCTTACACATGCAAGTCGAACGAAGTTTTTCGGACTTAGTGGCGGACGG
GTGAGTAACGCGTAAGAATCTACCTATAGGTTTCGGGACAACAGTTAGAAATGACTGC
TAATACCGGATGTGCCTTCGGGTGAAAGTTTTAATGCCTGTAGATGAGCTTGCGTTTCG
ATTAGCTAGATGGTGAAGTAATGGCTCACCATGGCGACGATCGATAACTGGTCTGAG
AGGATGACCAGTCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC
AGTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATACCGCGTGAGGGA

CGAAGGTCTGTGGATTGTAAACCTCTTTTGTGTTGGGGAAGATAATGACGGTACCCAAC
GAATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGGAGGATGCAAGC
GTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGTACGTAGGCTGTTTCATAAGTCTGTTGTCA
AAGCGCGAGGCTCAACCTTGTAAGGCAATGGAACTGCGGAGACTAGAGAGAGATA
GGGGCAGGAGGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTGGAAGAACAC
CAGTGGCGAAAGCGTCCTGCTGGATCTCAACTGACGCTGAAGTACGAAAGCTAGGG
GAGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGGTACTAGGTG
TTGGTCGTATCGACCCGATCAGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTACCCCGCCTGGGG
AGTACGGTCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTG
GAGTATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATGTCTG
TGAATCCTCTTGAAAGGGAGGAGTGCCTTCGGGAGCACGAACACAGGTGGTGCATG
GCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TCGTATTTAGTTGCCATCATTCAAGTTGGGCACTCTAGATAGACTGCCGGTGACAAACC
GGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTACGCCTTGGGCTACACAC
GTACTACAATGGCCGGGACAAAGAGTTGCGAGCATGCGAATGCAAGCTAATCTCATA
AACCCCGTCTTAGTTTCAGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGGCGGAATCGC
TAGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG
CCCGTCACACCATGGAAGCTGGTCACGCCCCGAAGTCGTTATCTCAACCCGTAAGGGA
GGGAGGCGCCTAAGTCTGT

Нуклеотидная последовательность гена 16S рPHK штамма CALU 1787 (длина последовательности -1376 п.н.)

GGCGCAGCTTACCATGCAGTCGACGAAGTTTTTCGGACTTAGTGGCGGACGGGTGAGT
AACGCGTAAGAATCTACCTATAGGTTTCGGGACAACAGTTAGAAATGACTGCTAATAC
CGGATGTGCCTTCGGGTGAAAGTTTTAATGCCTGTAGATGAGCTTGCGTTCGATTAGC
TAGATGGTGAGGTAATGGCTCATGGCCGACGGATCCGATAACTGGTCTGAGAGGATG
ACCAGTCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGG
GGAATTTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATACCGCGTGAGGGACGAAG
GTCTGTGGATTGTAAACCTCTTTTGTGTTGGGGAAGATAATGACGGTACCCAACGAATA
AGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGGAGGATGCAAGCGTTAT
CCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGTACGTAGGCTGTTTCATAAGTCTGTTGTCAAAGC
GCGAGGCTCAACCTTGTAAGGCAATGGAACTGCGGAGACTAGAGAGAGATAGGGG
CAGGAGGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTGGAAGAACACCAAGT
GGCGAAAGCGTCCTGCTGGATCTCAACTGACGCTGAAGTACGAAAGCTAGGGGAGC
GAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGGTACTAGGTGTTGGT
CGTATCGACCCGATCAGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTAC
GGTCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGTA
TGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATGTCTGTAAT

CCTCTTGAAAGGGAGGAGTGCCTTCGGGAGCACGAACACAGGTGGTGCATGGCTGT
CGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGTA
TTAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACTCTAGATAGACTGCCGGTGACAAACCGGAG
GAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTACGCCTTGGGCTACACACGTAC
TACAATGGCCGGGACAAAGAGTTGCGAGCATGCGAATGCAAGCTAATCTCATAAACC
CGGTCTTAGTTTCAGATTGCAGGCTGCAACTCTCCTGCATGAAGGCGGAATCGCTAGT
AATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCG
TCACACCATGGAAGCTGGTCACGCCCCGAAGTCGTTATCTCAACCCGTAAGGGAGGG
AGGCGCTAACGTCTGT

Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК штамма CALU 1791 (длина последовательности - 1377 п.н.).

GCGGTATGCTTAACACATGCAAGTCGAACGAAGTTTTTCGGACTTAGTGGCGGACGGG
TGAGTAACGCGTAAGAATCTACCTATAGGTTTCGGGACAACAGTTAGAAATGACTGCT
AATACCGGATGTGCCTTCGGGTGAAAGTTTTAATGCCTGTAGATGAGCTTGCGTTTCA
TTAGCTAGATGGTGAGGTAATGGCTCACCATGGCGACGATCGATAACTGGTCTGAGA
GGATGACCAGTCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA
GTGGGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATACCGCGTGAGGGAC
GAAGGTCTGTGGATTGTAAACCTCTTTTGTGGGGAAGATAATGACGGTACCCAACG
AATAAGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGGAGGATGCAAGCG
TTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGTACGTAGGCTGTTTCATAAGTCTGTTGTCAA
AGCGCGAGGCTCAACCTTGTAAGGCAATGGAAACTGCGAGACTAGAGAGAGATAG
GGGACAGGAGGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTGGAAGAACACC
AGTGGCGAAAGCGTCCTGCTGGATCTCAACTGACGCTGAAGTACGAAAGCTAGGGG
AGCGAATGGGATTAGATACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGGTACTAGGTGT
TGGTCGTATCGACCCGATCAGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTACCCCGCCTGGGGA
GTACGGTCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGG
AGTATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATGTCGT
GAATCCTCTTGAAAGGGAGGAGTGCCTTCGGGAGCACGAACACAGGTGGTGCATGG
CTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCT
CGTATTTAGTTGCCATCATTAGTTGGGCACTCTAGATAGACTGCCGGTGACAAACCG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTACGCCTTGGGCTACACACG
TACTACAATGGCCGGGACAAAGAGTTGCGAGCATGCGAATGCAAGCTAATCTCATAA
ACCCGGTCTTAGTTTCAGATTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGGCGGAATCGCT
AGTAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC
CCGTCACACCATGGAAGCTGGTCACGCCCCGAAGTCGTTATCTCAACCCGTAAGGGAG
GGAGGCGCTAAGGC

Нуклеотидная последовательность гена 16S рPHK штамма CALU 1811 (длина последовательности - 1383 п.н.).

GTATGCTTAACACATGCAAGTCGAAACGAAGTCTTCGGACTTAGTGGCGGACGGGTG
AGTAACGCGTAAGAATCTACCTATAGGTTTCGGGACAACAGTTAGAAATGACTGCTAAT
ACCGGATATGCCTTCGGGTGAAAGTTTTAATGCCTGTAGATGAGCTTGCGTTCGATTA
GCTAGATGGTGGGGTAACGGCTTACCATGGCGACGATCGATAACTGGTCTGAGAGGA
TGACCAGTCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
GGGAATTTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATACCGCGTGAGGGACGAA
GGCCTGTGGGTTGTAAACCTCTTTTGTAGGGAAGATAATGACGGTACCTAACGAATA
AGCATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGGAGGATGCAAGCGTTAT
CCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGTACGTAGGCTGTTTGATAAGTCTGTTGTCAAAGC
CCGAGGCTCAACCTTGGATCGGCAATGGAACTGTGAGACTAGAGAGAGATAGGGG
CAGGAGGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTGGAAGAACACCACT
GGCGAAAGCGTCCTGCTGGATCTCAACTGACGCTGAAGTACGAAAGCTAGGGGAGG
GAATGGGATTAGATACCCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGACACTAGGTGTTGG
CCGTATCGACCCGGTCAGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTGTCCCGCCTGGGGAGTA
CGGTCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCCCAAGCGGTGGAGT
ATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATGTCGTGAA
TCCTCTTGAAAGGGAGGAGTGCCTTCGGGAGCACGAACACAGGTGGTGCATGGCTG
TCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGT
TTTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAGAGAGACTGCCGGTGACAAACCGGA
GGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGCCCCCTTACGCCTTGGGCTACACACGTA
CTACAATGGTCGGGACAAAGAGTCGCAAGCATGCGAATGCAAGCTAATTTCATAAAC
CCGGTCTTAGTTCAGATTGCAGGCTGCAACTCGCGTGCATGAAGGCGGAATCGCTAG
TAATCGCAGGTCAGCATACTGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
GTCACACCATGGAAGCTGGTCACGCCCCGAAGTCGTTATCTCAACCCGCAAGGGAGG
GAGGCGCCTACGGCTGTTTCGG

Нуклеотидная последовательность гена 16S рPHK штамма CALU 1812 (длина последовательности - 1368 п.н.).

TACACATGCAGTCGAACGGGTACTTCGGTACTAGTGGCGGACGGGTGAGTAACGCGT
AAGAATCTACCTATAGGTTTCGGGACAACAGTTAGAAATGACTGCTAATACCGGATATG
CCGAGAGGTGAAAGTTTTAATGCCTATAGATGAGCTTGCGTCCGATTAGCTAGATGGA
GTGGTAACGGCACACCATGGCGACGATCGGTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGTCA
CACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATTTTC
CGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAATACCGCGTGAGGGACGAAGGTCTGTGGA
TTGTAAACCTCTTTTGTAGGGAAGATAATGACGGTACCTAACGAATAAGCATCGGCT

AACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAGACGGAGGATGCAAGCGTTATCCGGAATTATT
GGGCGTAAAGCGTACGTAGGCTGTTAGATAAGTCTGTTGTCAAAGCGCGAGGCTCAA
CCTTGTAAGGCAATGGAACTGTTTGACTAGAGAGAGATAGGGGCAGGAGGAATTC
CAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATCTGGAAGAACACCAGTGGCGAAAGCGTCC
TGCTGGATCTCAACTGACGCTGAAGTACGAAAGCTAAGGGAGGGAATGGGATTAGAT
ACCCAGTAGTCCTAGCCGTAAACGATGGGTACTAGGTGTTGGTCGTATCGACCCGAT
CAGTGCCGTAGCTAACGCGTTAAGTACCCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTGA
AACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGTATGTGGTTTAATTCGA
TGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATGTCGTGAATCCTCTTGAAAGGGAG
GAGTGCCTTCGGGAGCACGAACACAGGTGGTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGT
GAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGTATTTAGTTGCCATCATT
AGTTGGGCACTCTAGATAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACG
TCAAGTCATCATGCCCCCTTACGCCTTGGGCTACACACGTACTACAATGGTCGGGACAA
AGAGTTGCGAGCATGCGAATGCAAGGTAATTCATAAACCCGGTCTTAGTTCAGATTG
CAGTCTGCAACTCGCCTGCATGAAGGCGGAATCGCTAGTAATCGCAGGTCAGCATA
TGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGAAGCTGG
TCACGCCCCGAAGTCAGTTATCTCAACCCGTAAGGGAGGAGGCGCCTACCGTCA

Приложение 3

Таблица 1.

Штаммы, последовательности гена 16S рРНК которых были депонированы в GenBank и использованы в данном исследовании.

Штамм	Идентификатор последовательности в GenBank	Происхождение штамма	Экологические особенности
<i>Pseudanabaena catenata</i> SAG1464	KM020005	Великобритания, канава около Оксфорда	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата
<i>Pseudanabaena catenata</i> PCC7408	AB039020	Великобритания, р. Темза	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата
<i>Pseudanabaena</i> sp. PS1303	LC016775	Япония, о. Касумигаура	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата
<i>Pseudanabaena</i> sp. Ak1201	LC016774	Япония, о. Бива	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата
<i>Pseudanabaena</i> sp. 0830-3	AB936777	Япония, о. Хатиругата	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата
<i>Pseudanabaena</i> sp. CZS_47H	KY379886	Германия, лагуна Дарс-Цингстер Бодденкетте	Выделен из лагун Балтийского моря
<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC 6903	AB039017	?	?
<i>Pseudanabaena galeata</i> SAG13.83	LC016778	Австрия, о. Обер	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата
<i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6	LC016776	Швеция, о. Меларен	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата
<i>Pseudanabaena foetida</i> PTG	LC016773	Япония, о. Бива	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата
<i>Pseudanabaena foetida</i> NIES-512	LC153790	Япония, о. Бива	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата

Таблица 1 (продолжение).

<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC6802	AB039016	Соединенные Штаты Америки, штат Калифорния	Выделен из пресноводного водоема в зоне средиземноморского климата
<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7367	AB039018	Мексика, побережье	Выделен из соленого местообитания с тропическим или умеренным климатом
<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7403	AB039019	Швейцария	Выделен из пресноводного водоема (болото) в зоне континентального климата
<i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1	AJ580007	Нидерланды, о. Лосдрехтсе-Плас	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата
<i>Limnothrix</i> sp. Sai002	GU935351	Германия, ручей Зайденбах	Выделен из пресноводного водоема в зоне умеренного климата
<i>Synechococcus</i> sp. PCC7009	AF216945	?	?
<i>Leptolyngbya frigida</i> ANT.L53B.2	AY493576	Антарктида, холмы Ларсеманна	Выделен из пресных водоемов холодных местообитаний
<i>Phormidesmis priestleyi</i> ANT.LG2.4	AY493580	Антарктида, холмы Ларсеманна	Выделен из пресных водоемов холодных местообитаний

Приложение 4.

Таблица 1.

Сравнение нуклеотидных последовательностей исследуемых штаммов и последовательностей из GenBank

Номер исследуемого штамма, CALU	Название штамма и номер последовательности из GenBank	Степень сходства
CALU 1773	<i>Pseudanabaena catenata</i> SAG1464, KM020005	97%
	<i>Pseudanabaena catenata</i> PCC7408, AB039020	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PS1303, LC016775	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. Ak1201, LC016774	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. 0830-3, AB936777	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. CZS_47H, KY379886	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC 6903, AB039017	98%
	<i>Pseudanabaena galeata</i> SAG13.83, LC016778	96%
	<i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6, LC016776	98%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> PTG, LC016773	97%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> NIES-512, LC153790	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7367, AB039018	89%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC6802, AB039016	91%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7403, AB039019	91%
	<i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1, AJ580007	97%
	<i>Limnothrix</i> sp. Sai002, GU935351	97%
	<i>Synechococcus</i> sp. PCC7009, AF216945	86%
	<i>Leptolyngbya frigida</i> ANT.L53B.2, AY493576	90%
	<i>Phormidesmis priestleyi</i> ANT.LG2.4, AY493580	89%
CALU 1785	<i>Pseudanabaena catenata</i> SAG1464, KM020005	98%
	<i>Pseudanabaena catenata</i> PCC7408, AB039020	98%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PS1303, LC016775	98%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. Ak1201, LC016774	98%

Таблица 1 (продолжение).

	<i>Pseudanabaena</i> sp. 0830-3, AB936777	98%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. CZS_47H, KY379886	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC 6903, AB039017	97%
	<i>Pseudanabaena galeata</i> SAG13.83, LC016778	98%
	<i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6, LC016776	98%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> PTG, LC016773	98%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> NIES-512, LC153790	98%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7367, AB039018	88%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC6802, AB039016	91%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7403, AB039019	91%
	<i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1, AJ580007	98%
	<i>Limnothrix</i> sp. Sai002, GU935351	97%
	<i>Synechococcus</i> sp. PCC7009, AF216945	86%
	<i>Leptolyngbya frigida</i> ANT.L53B.2, AY493576	90%
	<i>Phormidesmis priestleyi</i> ANT.LG2.4, AY493580	89%
CALU 1787	<i>Pseudanabaena catenata</i> SAG1464, KM020005	97%
	<i>Pseudanabaena catenata</i> PCC7408, AB039020	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PS1303, LC016775	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. Ak1201, LC016774	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. 0830-3, AB936777	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. CZS_47H, KY379886	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC 6903, AB039017	97%
	<i>Pseudanabaena galeata</i> SAG13.83, LC016778	97%
	<i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6, LC016776	98%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> PTG, LC016773	97%

Таблица 1 (продолжение)

	<i>Pseudanabaena foetida</i> NIES-512, LC153790	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7367, AB039018	88%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC6802, AB039016	90%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7403, AB039019	91%
	<i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1, AJ580007	98%
	<i>Limnothrix</i> sp. Sai002, GU935351	97%
	<i>Synechococcus</i> sp. PCC7009, AF216945	85%
	<i>Leptolyngbya frigida</i> ANT.L53B.2, AY493576	89%
	<i>Phormidesmis priestleyi</i> ANT.LG2.4, AY493580	88%
CALU 1791	<i>Pseudanabaena catenata</i> SAG1464, KM020005	98%
	<i>Pseudanabaena catenata</i> PCC7408, AB039020	98%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PS1303, LC016775	98%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. Ak1201, LC016774	98%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. 0830-3, AB936777	98%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. CZS_47H, KY379886	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC 6903, AB039017	97%
	<i>Pseudanabaena galeata</i> SAG13.83, LC016778	98%
	<i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6, LC016776	98%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> PTG, LC016773	98%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> NIES-512, LC153790	98%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7367, AB039018	88%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC6802, AB039016	90%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7403, AB039019	91%
	<i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1, AJ580007	98%
	<i>Limnothrix</i> sp. Sai002, GU935351	98%
	<i>Synechococcus</i> sp. PCC7009, AF216945	86%

Таблица 1 (продолжение).

	<i>Leptolyngbya frigida</i> ANT.L53B.2, AY493576	90%
	<i>Phormidesmis priestleyi</i> ANT.LG2.4, AY493580	89%
CALU 1811	<i>Pseudanabaena catenata</i> SAG1464, KM020005	99%
	<i>Pseudanabaena catenata</i> PCC7408, AB039020	99%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PS1303, LC016775	99%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. Ak1201, LC016774	99%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. 0830-3, AB936777	99%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. CZS_47H, KY379886	99%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC 6903, AB039017	98%
	<i>Pseudanabaena galeata</i> SAG13.83, LC016778	97%
	<i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6, LC016776	97%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> PTG, LC016773	97%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> NIES-512, LC153790	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7367, AB039018	89%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC6802, AB039016	90%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7403, AB039019	91%
	<i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1, AJ580007	99%
	<i>Limnothrix</i> sp. Sai002, GU935351	98%
	<i>Synechococcus</i> sp. PCC7009, AF216945	86%
	<i>Leptolyngbya frigida</i> ANT.L53B.2, AY493576	89%
	<i>Phormidesmis priestleyi</i> ANT.LG2.4, AY493580	90%
CALU 1812	<i>Pseudanabaena catenata</i> SAG1464, KM020005	96%
	<i>Pseudanabaena catenata</i> PCC7408, AB039020	96%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PS1303, LC016775	96%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. Ak1201, LC016774	96%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. 0830-3, AB936777	97%

Таблица 1 (продолжение)

	<i>Pseudanabaena</i> sp. CZS_47H, KY379886	97%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC 6903, AB039017	96%
	<i>Pseudanabaena galeata</i> SAG13.83, LC016778	97%
	<i>Pseudanabaena limnetica</i> NIVA-CYA276/6, LC016776	99%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> PTG, LC016773	99%
	<i>Pseudanabaena foetida</i> NIES-512, LC153790	99%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7367, AB039018	88%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC6802, AB039016	91%
	<i>Pseudanabaena</i> sp. PCC7403, AB039019	91%
	<i>Limnothrix redekei</i> CCAP 1443/1, AJ580007	97%
	<i>Limnothrix</i> sp. Sai002, GU935351	97%
	<i>Synechococcus</i> sp. PCC7009, AF216945	85%
	<i>Leptolyngbya frigida</i> ANT.L53B.2, AY493576	89%
	<i>Phormidesmis priestleyi</i> ANT.LG2.4, AY493580	88%